

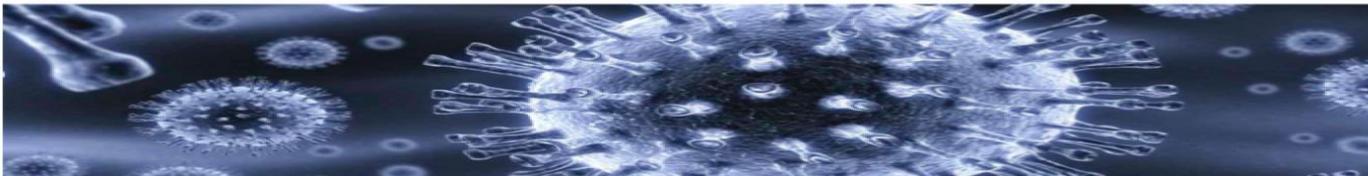
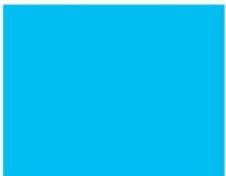
Российский национальный исследовательский медицинский
университет имени Н.И. Пирогова

Кафедра клинической лабораторной диагностики ФДПО

Щербо Сергей Николаевич

ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА:

ПРОБЛЕМЫ, ВОЗМОЖНОСТИ, ПЕРСПЕКТИВЫ





**РОССИЙСКИЙ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМ. Н. И. ПИРОГОВА**



1. ИСТОРИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ





Гален К.



Мудров М.Я. Пирогов Н.И.



Боткин С.П.



Флоринский В.М.



Ослер У.



Уотсон Д.



Вентер Крейг



ФЕСТИВАЛЬ ГЕНОМИКИ 2015, БОСТОН:

«Вчера вернулся с Фестиваля Геномики. Как-будто слетал на другую планету или побывал в будущем. Ошеломлен геномной революцией, которая набирает ход. Я работаю в одном из самых передовых институтов, однако, чувствовал себя провинциалом на этом празднике высоких технологий.

Через пять лет будут расшифрованы геномы сотен тысяч людей, а через десять – геномы сотен миллионов людей. Ничего в человеческом деле (здоровье, питание, медицина) не будет делаться без геномного анализа. Поставлена задача предсказания фенотипа по геному и разработаны методики измерения фенотипа и представления его в цифровом виде. По геному научатся предсказывать предполагаемые заболевания, оптимальные лекарства, а также, лицо, рост, вес, голос, интеллект, оптимального брачного партнёра и всё-всё другое. Анализ будут делать машины, которые можно будет гонять в домашних условиях. В этот проект вкладываются колоссальные частные деньги. Всё серьёзно.»

2. КОММУНИКАЦИОННАЯ РЕВОЛЮЦИЯ

КНИГОПЕЧАТАНИЕ Печатный станок Иоганна Гутенберга обеспечивал архивирование материалов, связанных с культурой и выдающимися людьми. В 1450 г. в Европе менее 8% населения было грамотным, а с изобретением книгопечатания (пример массового производства), знания стали доступным простым людям, что привело к настоящей культурной, технологической и научной революции.

Сегодня каждый день генерируется три квинтиллиона байтов данных. Потребовалось 16 лет, чтобы каждый четвертый американец стал пользоваться персональным компьютером, 13 лет - мобильным телефоном, 7 лет – интернетом, а в случае смартфона хватило двух лет (есть у 2 из 7,25 млрд. жителей Земли).

ИНТЕРНЕТ. Интернет-сообщества, объединяющие людей с одинаковыми проблемами со здоровьем (например, PatientsLikeMe).

МОБИЛЬНЫЕ ТЕЛЕФОНЫ, СМАРТФОН архивируют огромные объемы частной информации. Программы образовательные через СМС, посвященные туберкулезу, малярии и ИППП

3. Эпоха патерналистской медицины, когда доктор знает лучше, а пациент счастлив, что у него есть врач, закончилась.

Майкл Спектр, New Yorker, 2013.

Медицина, основанная на превосходстве врача.

Первым врачом в Древнем Египте считается Имхотеп, который еще и верховный жрец.

Гиппократ был отцом не только медицины, но и медицинского патернализма: врачам следует скрывать «от больного многое», включая будущее или нынешнее состояние пациента».

Только в 16 и 17 веках появляются врачи (Джон Грегори, Томас Персиваль) признающие, что у пациента может или должно быть право голоса при лечении.

Первое упоминание об информированном согласии появилось только в 1957 году.

МЕДИНФОРМАЦИЯ СТАНОВИТСЯ ДОСТУПНОЙ

В недавнем прошлом пациент не мог ни посмотреть, ни повлиять на записи, которые делаются при коротком (менее 10 минут) визите к врачу об ИХ состоянии здоровья, ИХ организме, при этом ОНИ же и платят.

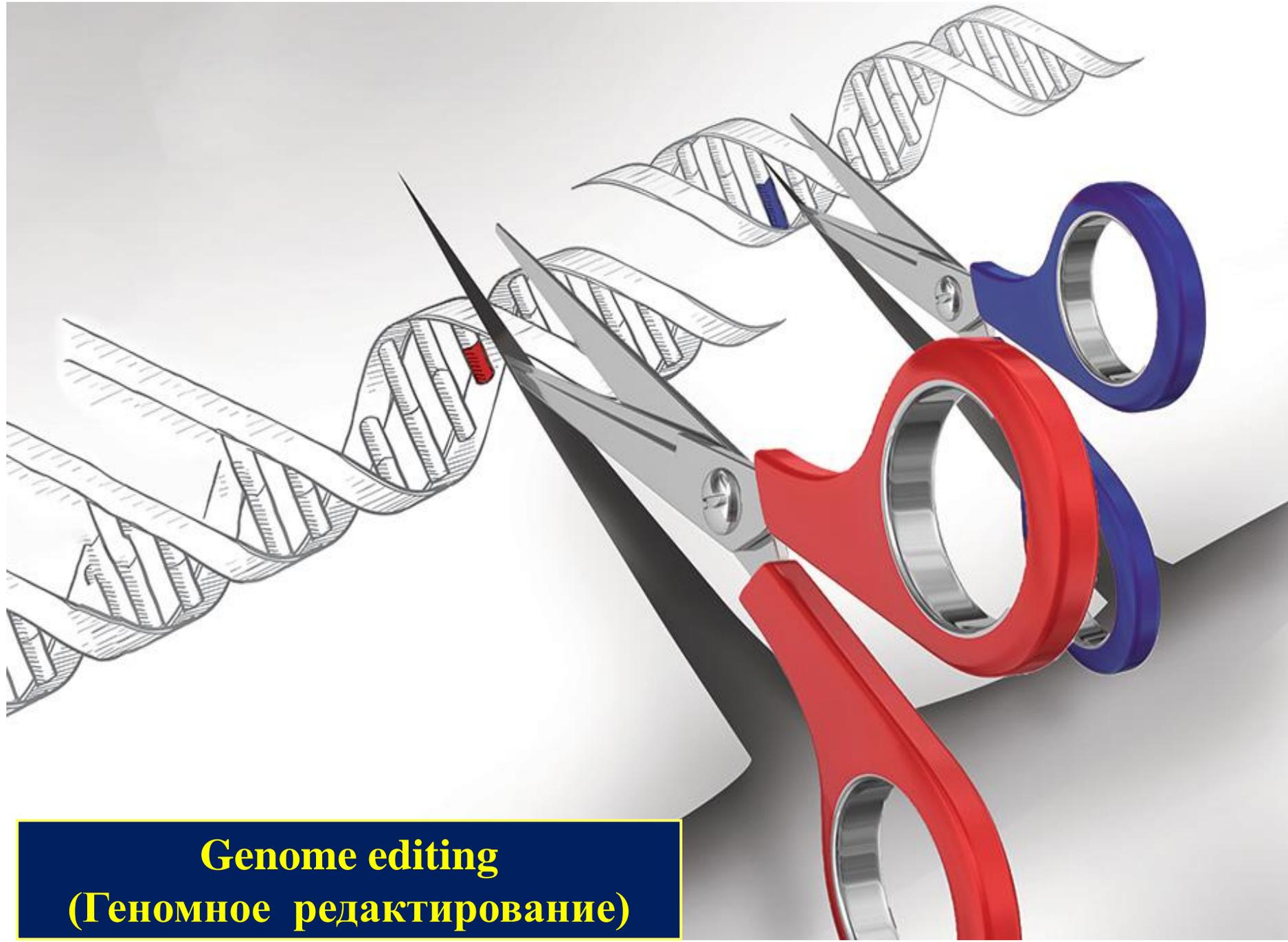
Ответственность за собственное здоровье.

4. ТРИ ВАЖНЕЙШИХ ТЕХНОЛОГИИ НАЧАЛА ВТОРОГО ДЕСЯТИЛЕТИЯ XXI ВЕКА:

**УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ
НАПРАВЛЕННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ;**

**СОЗДАНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМ
РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНОМА;**

**ЗНАЧИТЕЛЬНОЕ УДЕШЕВЛЕНИЕ И РУТИННОЕ
ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНОМНЫХ СЕКВЕНАТОРОВ.**



**Genome editing
(Геномное редактирование)**

Грядет эра персонализированной медицины и готовиться к ней нужно уже сегодня.

Джордж Черч. 2007

Медицина XXI века:

Медицина 4 «П»

Предиктивная (предсказательная)

Предупредительная (профилактическая)

Партисипативная – *пациент участник процесса, его информируют и обучают. Ему помогают в выборе, о нем заботятся.*

Персонализированная (индивидуальная)

Лерой Гуд (Leroy Hood) США, 2008)

Прецизионная **2015 год**

Медицина 5 «П»

(Медицинский алфавит. Современная лаборатория №4, 2015.)

ФИЛОСОФСКИЕ ПРОТИВОРЕЧИЯ И КОНФЛИКТЫ ПМ

**1. ИДЕЯ ПМ ДЛЯ КАЖДОГО КОНКРЕТНОГО
ЧЕЛОВЕКА НЕВЫПОЛНИМА, Т.К. ДЛЯ ТОГО,
ЧТОБЫ МЕДИЦИНСКОЕ ВМЕШАТЕЛЬСТВО БЫЛО
БЕЗОПАСНЫМ, НЕОБХОДИМО ПРОВОДИТЬ
КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НА ГРУППЕ
ПАЦИЕНТОВ.**

**2. МЕДИЦИНА СТРЕМИТСЯ К
СИСТЕМАТИЗАЦИИ И КЛАССИФИКАЦИИ,
КОТОРЫЕ ИМЕЮТ НЕДОСТАТКИ (СЛОЖНОСТЬ
ОРГАНИЗМА, ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ПАТОЛОГИЙ И
ДР.).**

**СТАНДАРТИЗАЦИЯ ПОЗВОЛЯЕТ
ГОСУДАРСТВУ РЕШАТЬ НРАВСТВЕННО-
ЮРИДИЧЕСКИЕ И ЭКОНОМИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ.**

ТАКОЙ ДОЛЖНА СТАТЬ МЕДИЦИНА XXI ВЕКА



Дорогая

Более дешевая

Настоящая

Доказательная Медицина
Всей Популяции

Доказательная
Медицина Групп

Персонализированная
Медицина Индивидуумов

Обзор тканеспецифичных белков позволил сделать выводы, касающиеся применяемых лекарств.

Около трети лекарств, нацеленных на работу с конкретными белками в конкретных тканях, на самом деле не являются тканеспецифичными. Их предполагаемые мишени в действительности присутствуют в равной мере во всех других тканях, что может давать множество побочных действий и фармакологам предоставлена возможность выбрать новые тканеспецифичные мишени. Имеется около тысячи белков, перспективных для поиска новых лекарств.

ВОЛЬТЕР

**« ДОКТОРА – ЭТО ТЕ, КТО
ПРОПИСЫВАЮТ ЛЕКАРСТВА,
О КОТОРЫХ МАЛО ЗНАЮТ,
ЧТОБЫ ЛЕЧИТЬ БОЛЕЗНИ, О
КОТОРЫХ ОНИ ЗНАЮТ ЕЩЕ
МЕНЬШЕ,**

**У ЛЮДЕЙ, О КОТОРЫХ ОНИ НЕ
ЗНАЮТ ВООБЩЕ НИЧЕГО».**



Персонализированная медицина

Вчера

Экспериментальное назначение лечения



Попробовать и перейти на другое лечение

Личный опыт врача

Затраты: время, деньги и здоровье

Сегодня

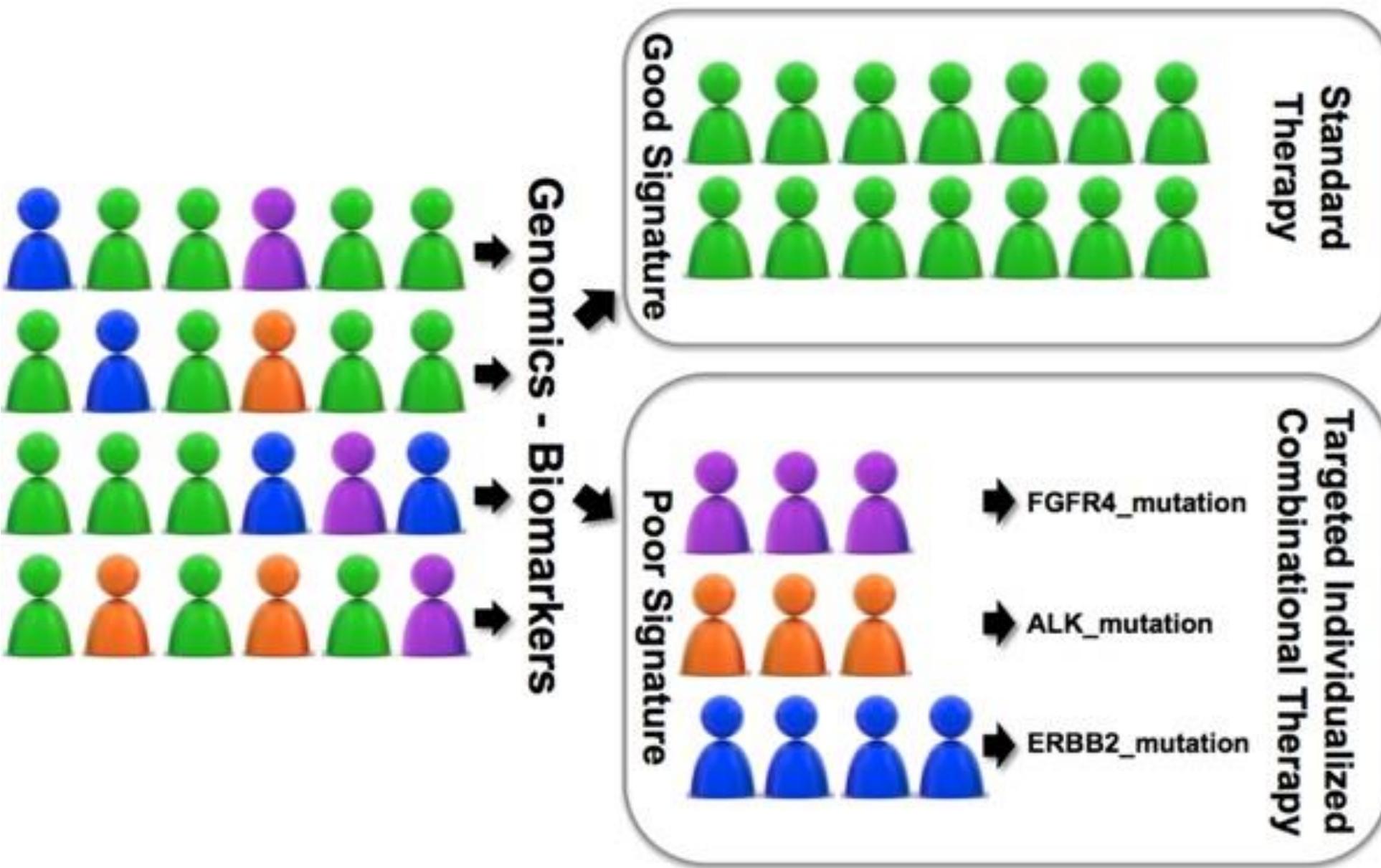
Разумное назначение терапии



Осознанный диагноз врача

Экономия: время, деньги и время болезни

Personalized Medicine - The Goal



**Группы
пациентов**



**ЛП токсичен,
но эффективен**



**ЛП токсичен и
неэффективен**



**с одним диагнозом
и
одной схемой лечения**



**ЛП не токсичен,
и неэффективен**



**ЛП не токсичен,
и эффективен**

И генотип, и приобретенные генетические изменения влияют, помимо прочего, и на восприятие ЛП, определяют параметры эффективности терапии и побочные эффекты.

Так, например, неблагоприятные реакции на ЛП стоят на

**5-м месте среди причин смертности
в США**



Одобрённые FDA

фармакогенетические тесты

- Выявление полиморфизмов генов CYP2D6 и CYP2C19 для выбора **антидепрессантов и нейролептиков**, а также их доз.
- Выявление полиморфизмов гена CYP2D6 для выбора дозы **атомоксетина** у детей с синдромом дефицита внимания.
- Выявление полиморфизмов TPMT для выбора дозы **6-меркаптопурина** у детей с лейкозами.
- Определение экспрессии гена HER2 для выбора **трастузумаба (херцептина)** у женщин с раком молочной железы.
- Выявление полиморфизмов гена CYP2C9 для выбора дозы **варфарина**

ПРОТЕОМ

Протеом организма — величина не постоянная, поскольку экспрессия генов может меняться под воздействием множества факторов внешней среды, а также изменений внутри организма, связанных, например, с возрастом, болезнью или другими причинами.

Международная организация по изучению протеома человека (HUPO) объявила о создании международного проекта, в котором участвует и Россия в качестве корпоративного исследователя 18-й хромосомы.

На проект "Протеом печени", который разворачивается в Китае, например, предусмотрено направить 32 миллиона долларов на два года.

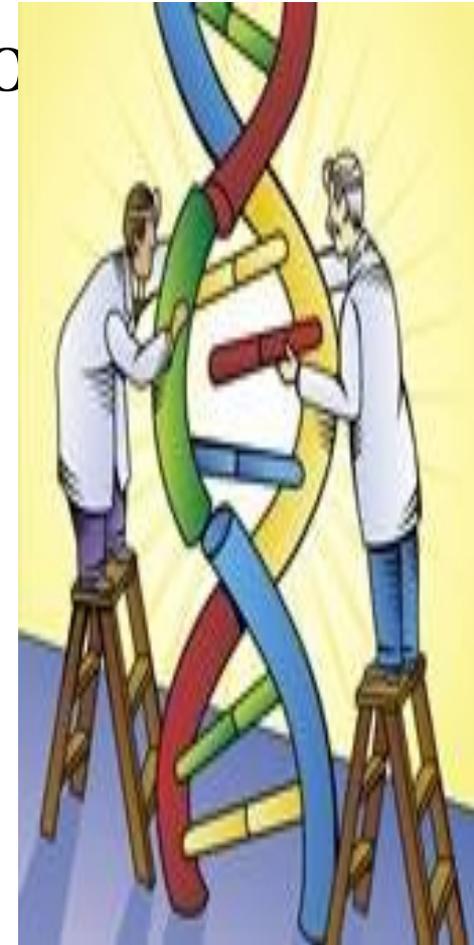
С точки зрения диагностики протеом плазмы крови представляет особый интерес, так как включает десятую часть всех белков организма человека.

Протеом плазмы крови

В 2002 г. был начат проект «Протеом плазмы крови», в реализации которого приняли участие 35 лабораторий из 13 стран. Идентифицировано более 10000 белков плазмы крови на основе анализа методом МС одного или двух, и свыше 3000 – при выявлении двух или более пептидов каждого белка. Основная проблема при анализе заключается в широком диапазоне концентраций белков и пептидов в образцах: концентрация альбумина обычно составляет 30-50 мг/мл сыворотки, а интерлейкина 0-1,5 пг/мл. Таким образом, **при исследовании протеомного состава крови существует огромный (до 10-12 порядков) разброс концентрации различных белков и преобладание среди них диагностически малозначимых.**

ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА

**ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА
ПРЕДСТАВЛЯЕТ СОБОЙ ИНТЕГРАЛЬНУЮ
МЕДИЦИНУ, КОТОРАЯ ВКЛЮЧАЕТ
РАЗРАБОТКУ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫХ
СРЕДСТВ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ
НА ОСНОВЕ ГЕНОМИКИ, ПРОТЕОМИКИ
И ДРУГИХ «ОМИК», ТЕСТИРОВАНИЯ НА
ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ
К ЗАБОЛЕВАНИЯМ, ПРОФИЛАКТИКУ,
ОБЪЕДИНЕНИЕ ДИАГНОСТИКИ
С ЛЕЧЕНИЕМ И МОНИТОРИНГОМ
ЛЕЧЕНИЯ**

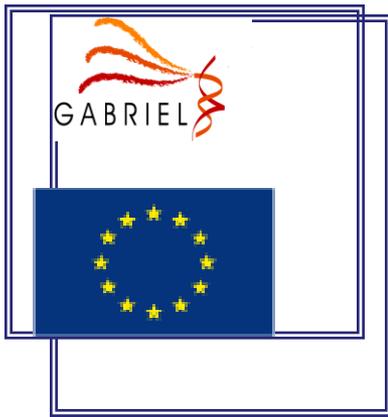


ЗАДАЧИ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ:

- 1. ПОНЯТЬ МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ ЗАБОЛЕВАНИЯ И НАЙТИ НАИБОЛЕЕ ВАЖНЫЕ БИОМАРКЕРЫ**
- 2. СОЗДАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ, НАИБОЛЕЕ ЭФФЕКТИВНО ДЕЙСТВУЮЩИХ НА НУЖНЫЕ МИШЕНИ, СВЯЗАННЫЕ С ПАТОЛОГИЕЙ**
- 3. БОЛЕЕ ГЛУБОКОЕ ПОНИМАНИЕ ДЛЯ РАЗЛИЧНЫХ ПОДПОПУЛЯЦИЙ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ , РАЗДЕЛЕНИЯ ИХ НА ТИПЫ И ПОДТИПЫ**

ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ

Наибольший прогресс в применении подходов ПМ наблюдается в диагностике и лечении мультифакторных заболеваний: онкологии, кардиологии, эндокринологии, лабораторной медицине, гинекологии, ревматологии, других областях медицины, а также фармакологии (фармакогенетика, фармакогеномика), выявление лекарственной резистентности, разработке и клинических испытаниях лекарственных средств. В организационных аспектах это ранняя диагностика, оценка риска, профилактика, мониторинг лечения.



Исполнитель: Европейский консорциум Gabriel

Сотрудничество: 164 ученых из 19 стран (23 исследовательских групп)

Объекты исследования: 10 000 астматиков (дети и взрослые) и 16 000 здоровых индивидуумов.

Ключевые результаты проекта GABRIEL (2006-2010 г.г.)

Обнаружены новые гены, участвующие в иммунном ответе, проницаемости эпителия бронхов и контроле скорости восстановления повреждений слизистой оболочки дыхательных путей.

- **Астму считали единой болезнью. Но полученные результаты предполагают биологические различия для трех клинических форм: детская, астма взрослых и тяжелая астма.**
- Аллергия является вторичным по отношению к дефектам слизистой оболочки дыхательных путей при астме и кожного барьера у детей с экземой. Терапия только аллергии не будет эффективна.
- Предсказательная ценность генетических тестов низкая. Необходима идентификация внешнесредовых факторов.
- **Обозначены мишени для эффективной терапии астмы.**

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ БИОМАРКЕРЫ

Deciphering Complex Disease

A systems biology approach using the SOLiD™ System

Detect and Sequence Insertions and Deletions

Discover and Quantitate Non-Coding RNA

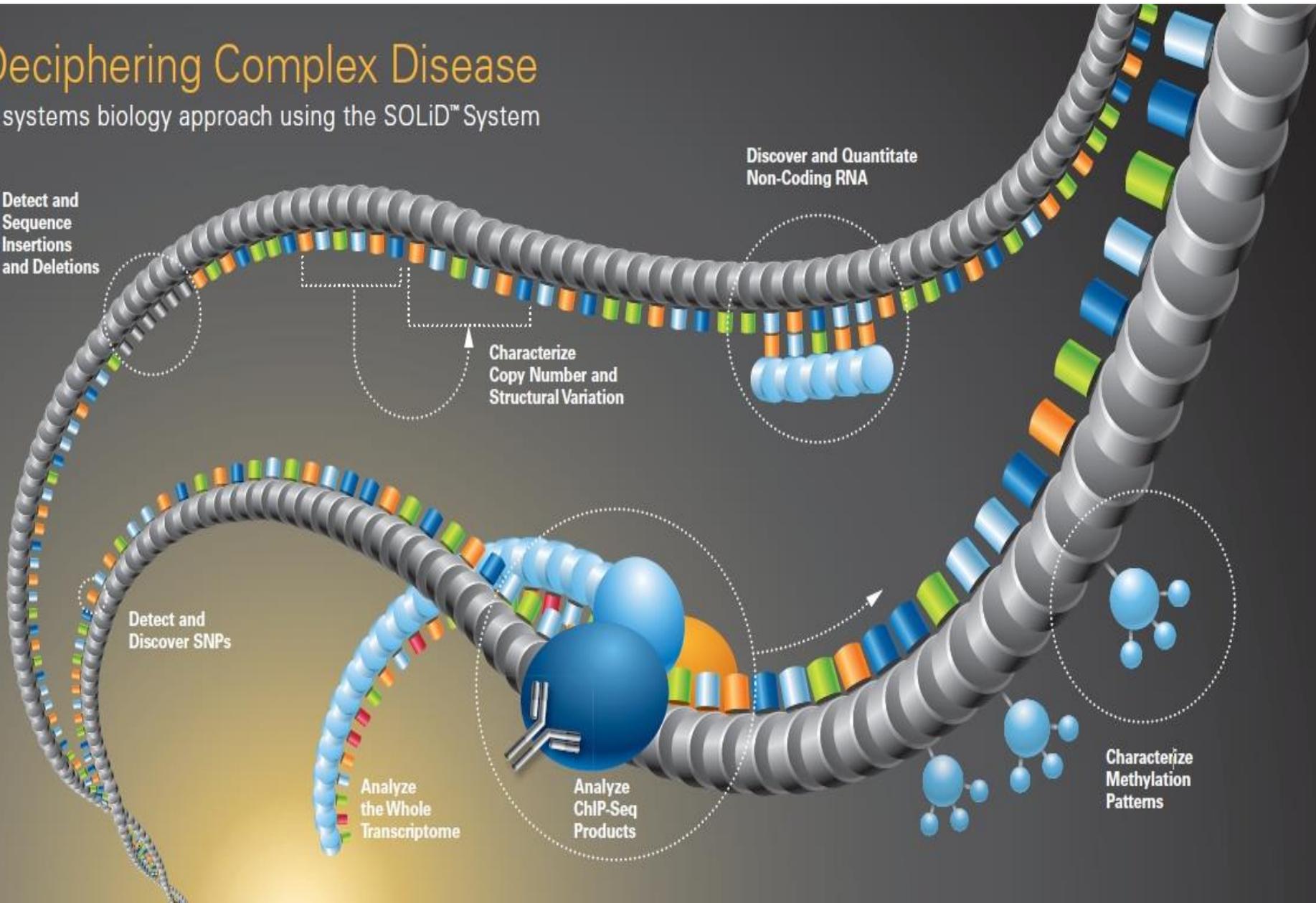
Characterize Copy Number and Structural Variation

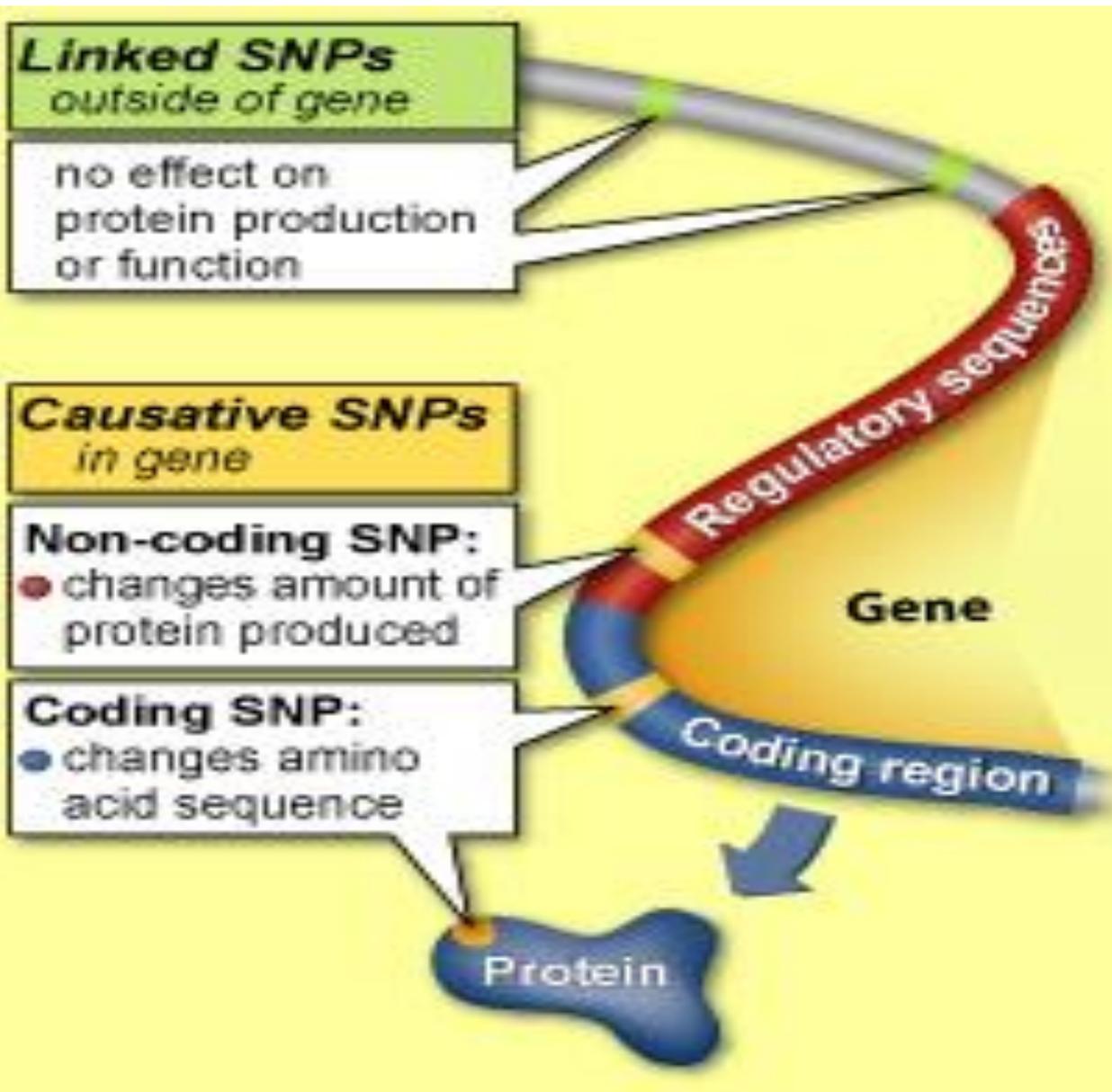
Detect and Discover SNPs

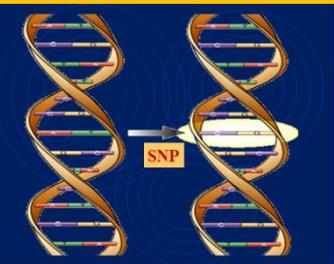
Analyze the Whole Transcriptome

Analyze ChIP-Seq Products

Characterize Methylation Patterns

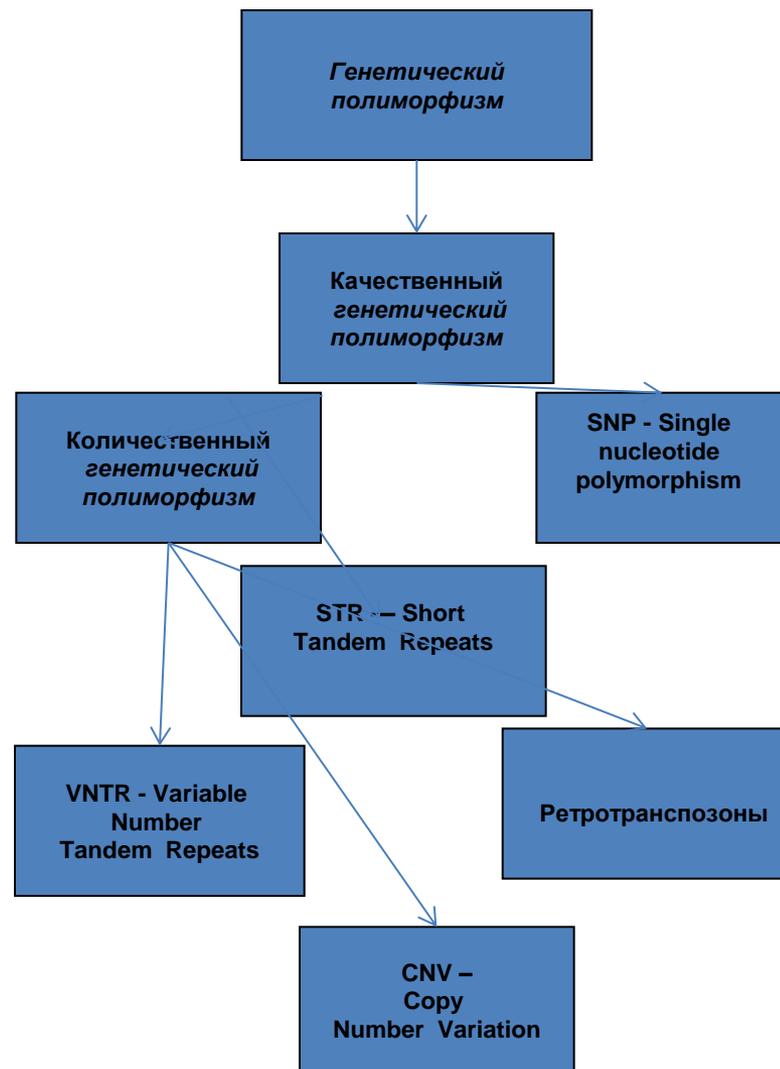






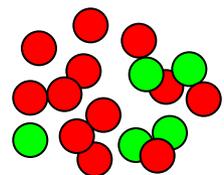
Полиморфизм генов как геномная основа МЕДИЦИНЫ 5П

- Индивидуальные особенности геномов обусловлены **генетическим полиморфизмом (SNP)**.
- Стабильные сочетания нескольких SNP на одной молекуле ДНК позволили их использовать как специфические биомаркеры.
- Полиморфизм генов можно считать основой медицины 5П. Предполагается, что около половины всех SNP (5 млн.) приходится на смысловую часть генома. Именно эти замены нередко представляют собой аллельные варианты генов, ассоциированных с мультифакторными заболеваниями (МФЗ)
- На анализе полиморфизмов и, соответственно, их ассоциациях и выстраивается стратегия поиска **генов предрасположенности**



Выявление «генов предрасположенности» к заболеванию проводится путем сопоставлений частот генотипов у больных и здоровых

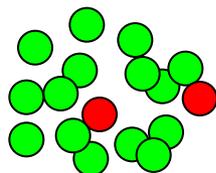
Группа больных



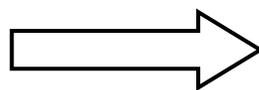
$P_{\text{больные}}$

>>

Контроль (здоровые)



$P_{\text{контроль}}$



● - генотип,
указывающий на
предрасположенность
к заболеванию.

OR – количественная мера предрасположенности (**O**dd **R**atio), показывает во сколько раз повышена вероятность заболеть для носителя «плохого» генотипа

$$\text{OR} = \frac{P_{\text{больные}} (1 - P_{\text{контроль}})}{P_{\text{контроль}} (1 - P_{\text{больные}})}$$

**Распространенные аллели с большим эффектом,
обнаруженные в GWAS (по Ch.S. Ku, 2010)**

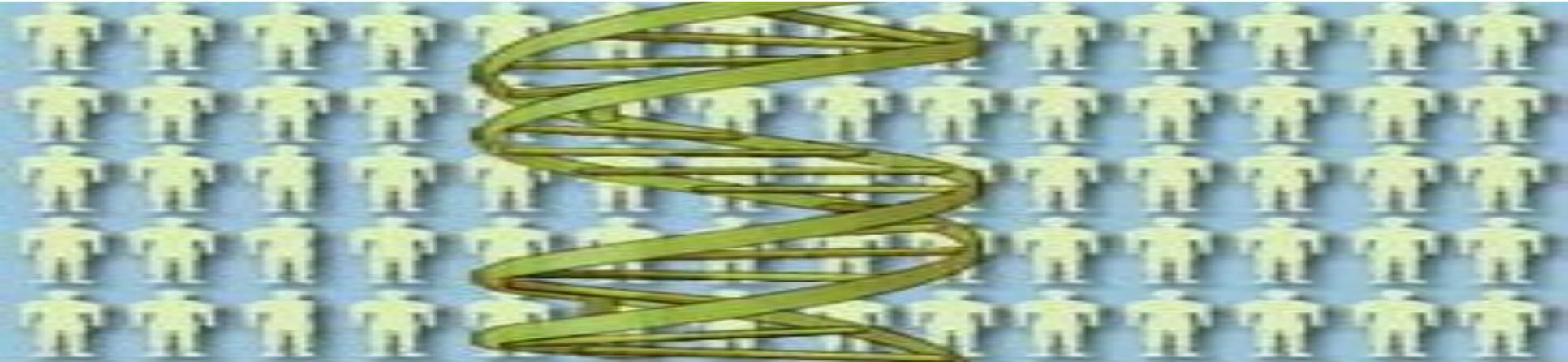
Болезнь	Наименование гена	rs	OR	OMIM	Регион
Возраст-зависимая дегенерация сетчатки	CFH	380390-C	4.60	134370	1q31
Эксфолиативная глаукома	LOXL1	382942-G	20.10	153456	15q24.1
Болезнь Крона	JL23R	10889677	2.13	607562	1p31.3
Рак яичка	KILTG	3782179	3.08	184745	12q22
		4474514	3.07		

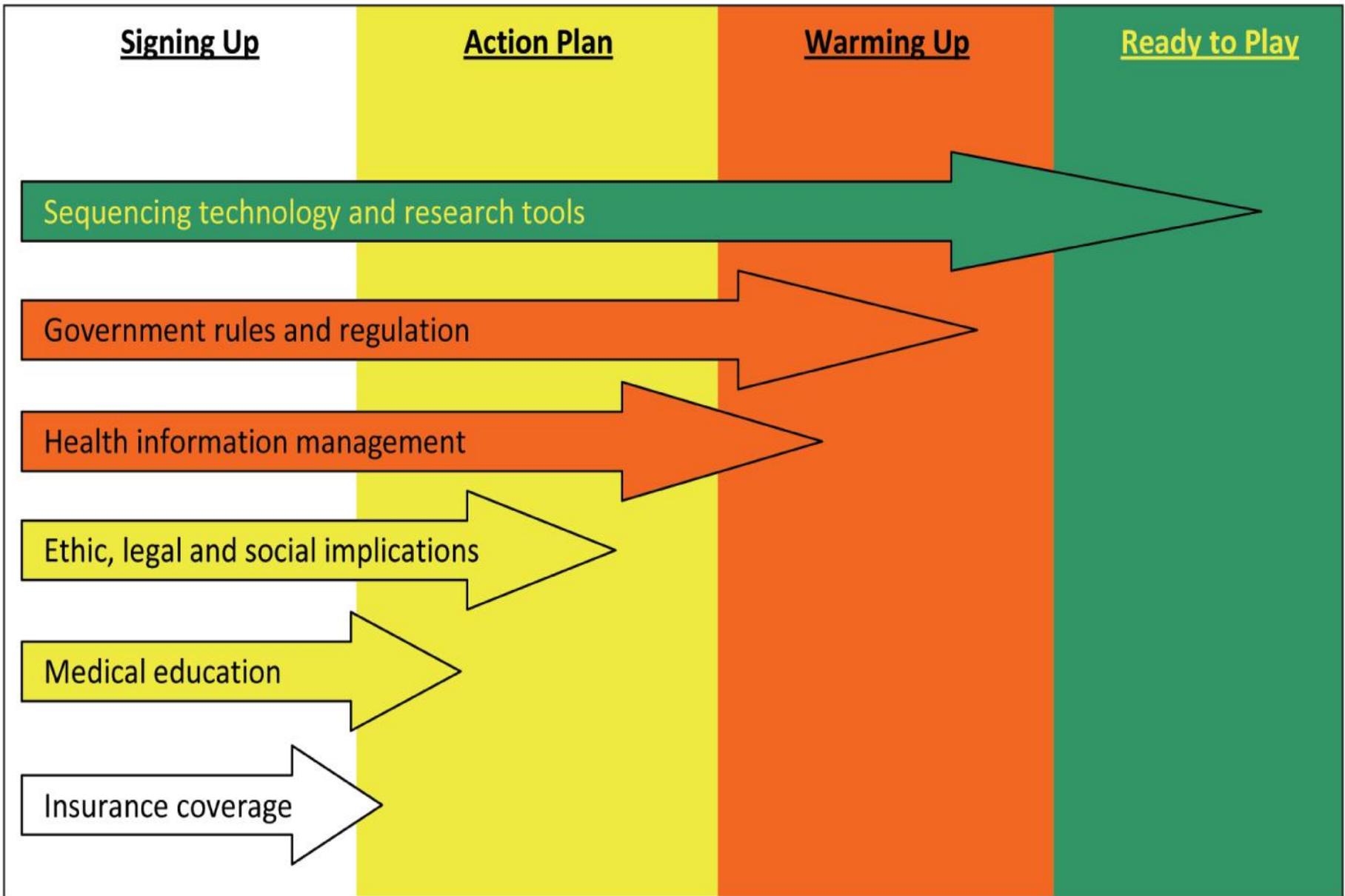
Определение этнической принадлежности пациента – один из способов быстрой оценки вероятности развития у него определенного заболевания. Однако судить об этом можно, только проведя ДНК-тестирование.



В Nature Medicine опубликована статья, в которой крупные мировые стратеги здравоохранения задались вопросом определения главных ресурсов здравоохранения с точки зрения эффективности работы. Проведено специальное исследование: к тысяче пациентов с определенной патологией применили современное стандартное лечение, некий средний уровень возможный на сегодня терапии, и эффективность оказалась 30%. К другой тысяче больных применили подходы ПМ и эффективность составила до 70%.

Таким образом, уже сегодня, опираясь на современные лекарственные и инструментальные ресурсы, эффективность лечения можно повысить на 40%!





This diagram portrays the stage of readiness of the important players for implementation of personalized medicine, according to the Personalized Medicine Coalition.

РОССИЯ (2016 г.):
НАЦИОНАЛЬНАЯ АССОЦИАЦИЯ
ЛАБОРАТОРНОЙ,
ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ И
ТРАНСЛЯЦИОННОЙ МЕДИЦИНЫ
(НАЛПТМ.РФ, NALPTM.RU)

МОНОГРАФИЯ «ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА»

Подготовлены к печати 2 тома : том 1 «Биологические основы»
и том 2 «Лабораторные технологии».



На конференции «Стратегия персонализированной медицины и ее развитие во фтизиопульмонологии» в Москве в декабре 2013 г.: слева направо профессор С. Сучков (Россия), Хироси Абэ (Япония), Дик ван Гент (Нидерланды), А. Маршал (США), С. Щербо (Россия)

Щербо Сергей Николаевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики ФДПО РНИМУ имени Н.И. Пирогова, профессор кафедры кожных и венерических болезней Медицинского института РУДН, президент Национальной ассоциации лабораторной, персонализированной и трансляционной медицины, вице-президент Российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики.

Щербо Дмитрий Сергеевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института трансляционной медицины РНИМУ имени Н.И. Пирогова.



1

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ

С.Н. Щербо, Д.С. Щербо

ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА

В семи томах



Том 1

С.Н. Щербо, Д.С. Щербо

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ



Москва
Российский университет дружбы народов
2016

ЛАБОРАТОРНАЯ И ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА

В настоящее время сложились новые предпосылки для **переоценки роли лабораторной медицины в общей системе клинических дисциплин**, что обусловлено требованиями, которые выдвигаются в связи со стремительным развитием современных подходов и принципов **доказательной и персонализированной медицины**, более глубоким пониманием характера междисциплинарных отношений.



**ПОИСК НАИБОЛЕЕ ЗНАЧИМЫХ
ЛАБОРАТОРНЫХ БИОМАРКЕРОВ И
ОМИКСНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ.**



ПОИСК БИОМАРАКЕРОВ НА РАЗЛИЧНЫХ УРОВНЯХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Metabolomics (molecules)

Метаболомика

Genomics (21,000 genes)

Геномика

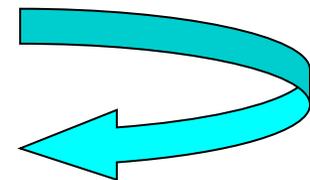
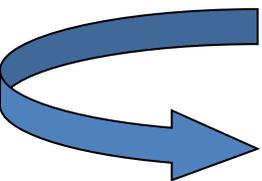
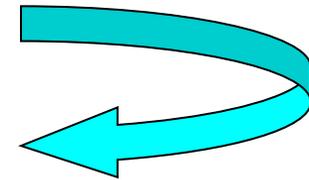
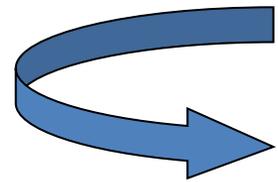
Transcriptomics (RNA - 100,000 mRNA's)

Транскриптомика

микроРНК (2000)

Proteomics (Proteins - 1,000,000 proteins)

Протеомика



ТЕХНОЛОГИИ ПОЛОЖИВШИЕ НАЧАЛО ЭРЫ ОМИКСНОЙ БИОЛОГИИ

В 1986 г. Лерой Худ (Калифорнийский технологический институт) изобрел первый автоматический секвенатор ДНК

В 1989 г. Стив Фодор (компания Affimax) создал первый ДНК-чип (microarray).

В течение последующих лет омиксный инструментарий обогатился многопараллельными методами для определения концентрации и активности белков (протеомика), метаболитов (метабономика) регуляции экспрессии генов (транскриптомика) и др.

В науке более 70% заявок на исследовательские гранты в США, Европе предполагают использование хотя бы одной ОМИКСной технологии.

Фармацевтические компании применяют омиксные технологии на всех этапах от токсикогеномики до мониторинга пациентов в клинических испытаниях (до 10 различных ОМИКСных тестов для каждого пациента в фазе II).

Основные платформы персонализированной и предиктивной медицины

**Генодиагностические технологии
(амплификация и секвенирование нуклеиновых кислот);**

Микробиочипы;

Масс-спектрометрия;

Микрофлюидомные технологии;

Проточная цитометрия, жидкостная биопсия;

**Анализ свободноциркулирующей
внеклеточной ДНК;**

Технологии мобильного здравоохранения.

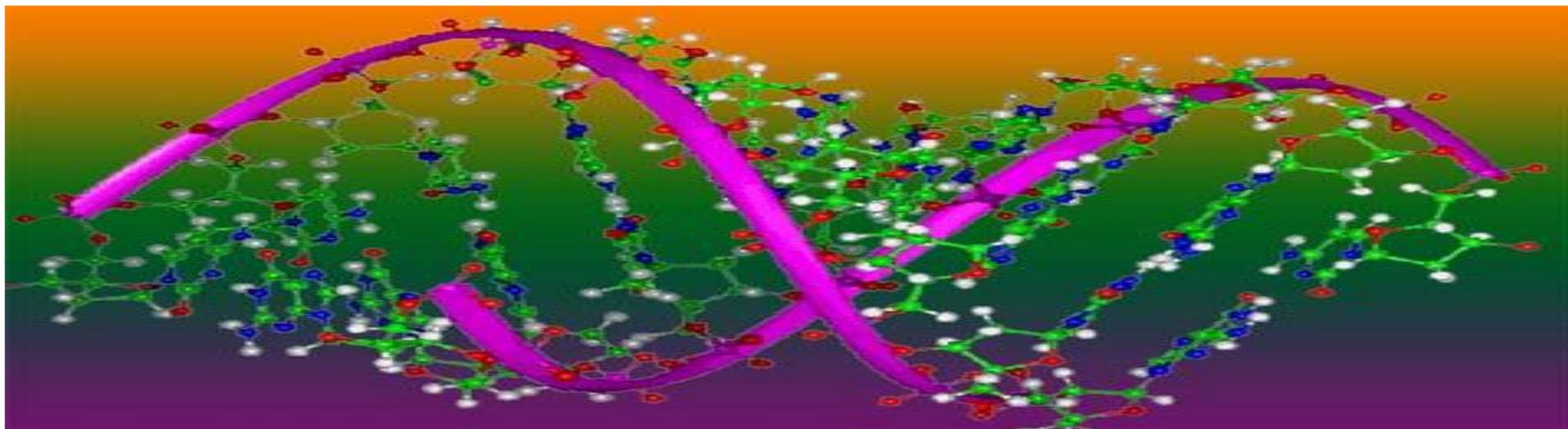
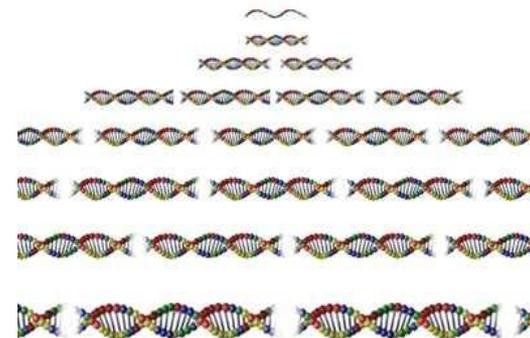
МЕТОДЫ И ПЛАТФОРМЫ ГЕНОДИАГНОСТИКИ

ГИБРИДИЗАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ нуклеиновых
кислот

АМПЛИФИКАЦИОННЫЕ

ТЕХНОЛОГИИ

СЕКВЕНИРОВАНИЕ нуклеиновых кислот



ПЦР в реальном времени

Капиллярный
электрофорез

Высокопроизводительное
секвенирование

Возможность обнаружения
менее **0,1% мутантных
молекул в геномной ДНК
дикого типа**

Возможность обнаружения
3-5 % мутантных генов
в геномной ДНК дикого типа
(фрагментный анализ)

Возможность обнаружения
0,01 % мутантных генов в
геномной ДНК дикого типа

Ранняя диагностика!

0,1% - 1% - 0,25%
(зависит от мутации)

Для анализа достаточно
20-100 нг ДНК

Для анализа достаточно
10 нг ДНК

Для анализа достаточно
10 нг ДНК, 5 нг РНК

(качественный/количественный анализ)

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА БИОМАРКЕРОВ РАКА

Мутации, ассоциированные с раком, имеют низкую концентрацию по сравнению с фоновой ДНК дикого типа в том же образце.

Цифровая ПЦР обеспечивает возможность определение концентрации мишени до одной из 1000000 (0,0001%).

Детектирование мутации T790M в рецепторе эпидермального фактора роста, важной терапевтической мишени для некоторых видов рака легких, дает лучшее понимание устойчивости к ингибиторам тирозинкиназы.

Cancer

Leukemia (CLL), lung cancer (NSCLC), colorectal cancer, papillary thyroid carcinoma and breast cancer

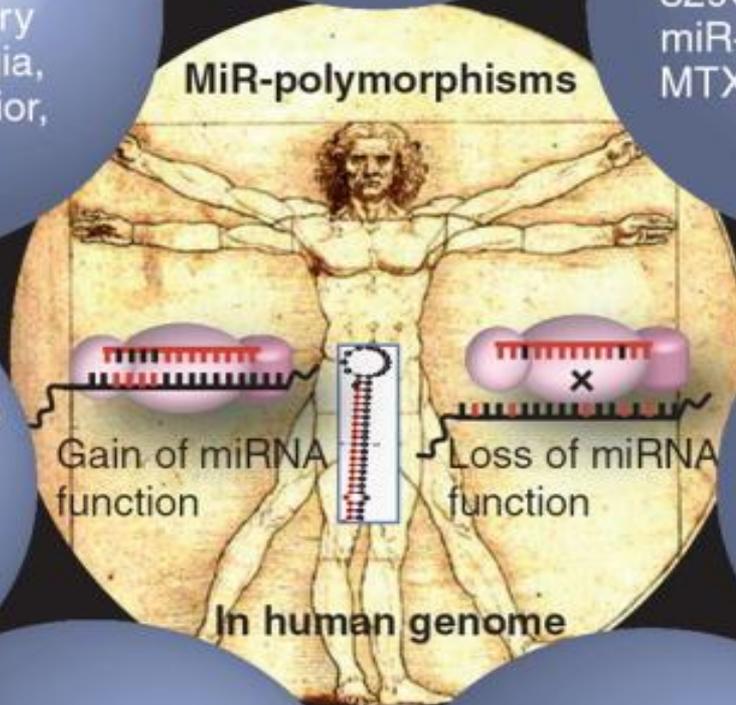
Neurological disorders

Tourette syndrome, ADHD, hereditary spastic paraplegia, aggressive behavior, Parkinson's disease

Drug resistance

829C>T in DHFR genes
miR-24
MTX resistance

MiR-polymorphisms



Hypertension and cardiovascular disease

An 1166A>C *AGTR1* gene miR-155

Muscular hypertrophy & gastric mucosal atrophy

Diarrhea, irritable bowel syndrome (IBS-D)

Type 2 diabetes

ACAA- insertion/deletion

Методический подход определения уровня экспрессии микроРНК в раковых клетках vs прилежащих нормальных клеток у одного пациента.

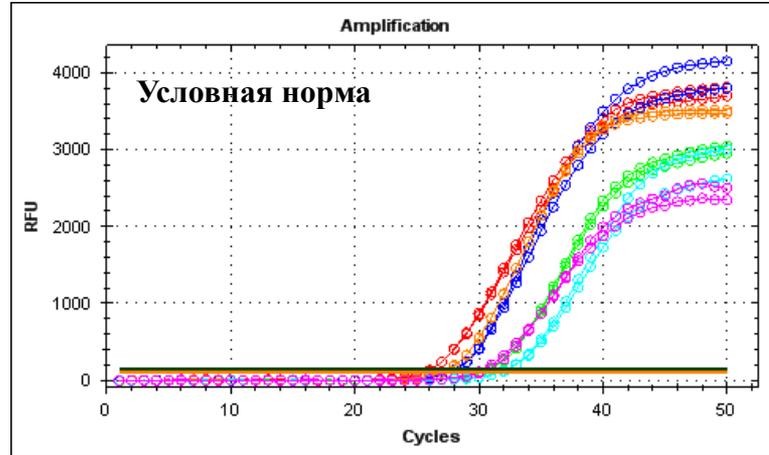
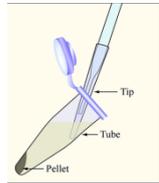
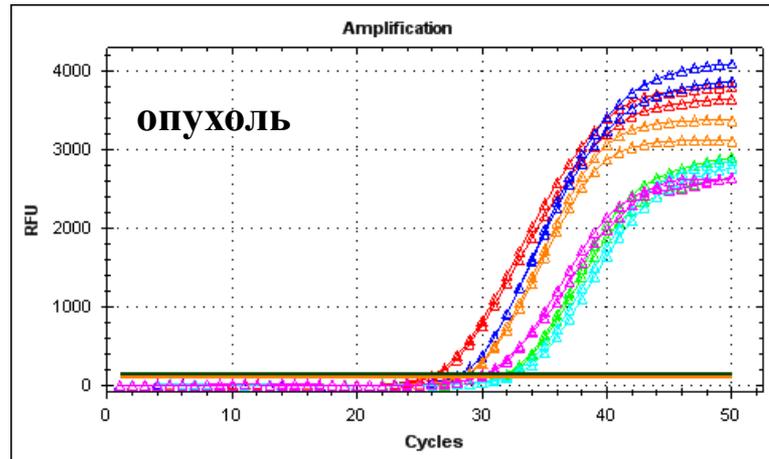
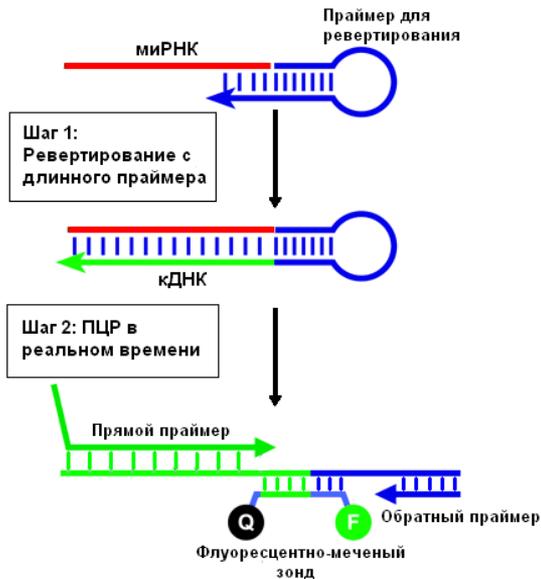


Схема детекции миРНК с помощью обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени



микроРНК И ОНКОЛОГИЯ

микроРНК-21 – хронологически первая идентифицированная микроРНК. Является сильным онкогеном. Её экспрессия увеличивается в большинстве солидных опухолей. Увеличивает пролиферативную и инвазивную активность опухолевых клеток.

микроРНК-221, микроРНК-222 – онкогенные микроРНК, индуцирующие ангиогенез и пролиферацию раковых клеток.

микроРНК-155 – продемонстрировано участие этой микроРНК в инициации как врожденного, так и адаптивного иммунных ответов, а также в развитии иммунной системы в целом. Некоторые работы свидетельствуют об участии микроРНК155 в онкогенезе различной этиологии.

микроРНК-205 – супрессор опухолевого роста, показано, что в случае некоторых видов опухолей микроРНК205 индуцирует апоптоз и тормозит рост опухоли.

Возможности микроРНК в диагностике опухолей

Дифференцировать доброкачественные опухоли от злокачественных новообразований

Контролировать эффект терапевтического воздействия (лучевая и химиотерапия)

Выявлять различные патоморфологические типы опухолей

Разработать алгоритмы ранней диагностики онкологических заболеваний

ПРИМЕНЕНИЕ

Ранняя диагностика

Определение гистотипа опухоли, стадии развития, потенциала к метастазированию

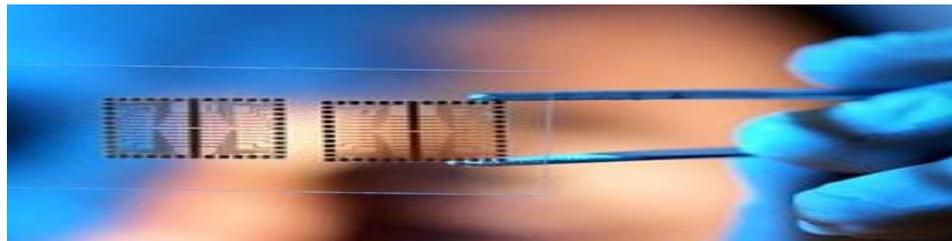
Прогностическое значение выживаемости

Потенциальная терапия

МИКРОБИОЧИПЫ (MICROARRAY)

Микробиочипы представляют собой миниатюрные устройства для анализа специфических взаимодействий биологических макромолекул (олигонуклеотиды, фрагменты геномной ДНК, РНК, белки, рецепторы, лиганды и другие).

Принцип миниатюризации, реализованный в биочипах, приводит к снижению себестоимости и повышению производительности выполнения анализа (несколько десятков и сотен тысяч параметров одновременно) и очень высокой автоматизации исследований.



ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МИКРОБИОЧИПОВ

**ВЫЯВЛЕНИЕ ИНФЕКЦИОННЫХ АГЕНТОВ И ИХ
АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВЫХ ФОРМ**

**ПОЛИМОРФИЗМ ПО ЕДИНИЧНЫМ НУКЛЕОТИДАМ
(ОНКОЛОГИЧЕСКИЕ, ССЗ И ДР.)**

**ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, ПРОФИЛЯ
микроРНК**

ИЗУЧЕНИЕ ВОСПРИИМЧИВОСТИ К ЛС

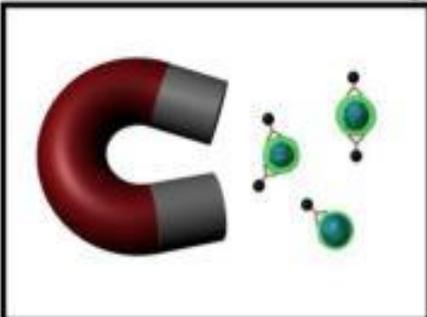
Предиктивно-Превентивная медицина

ЖИДКОСТНАЯ БИОПСИЯ

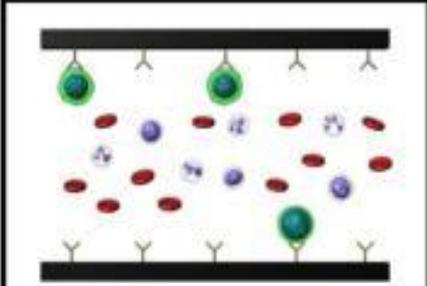
**ВЫЯВЛЕНИЕ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ
ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК (ЦОК,СТС)**

1. Immunoaffinity

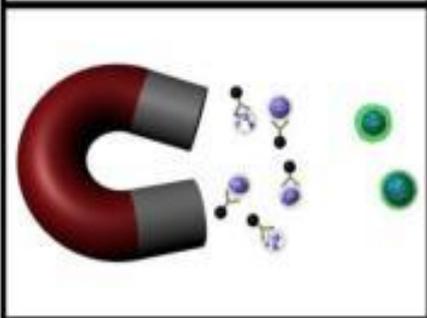
Magnetic beads



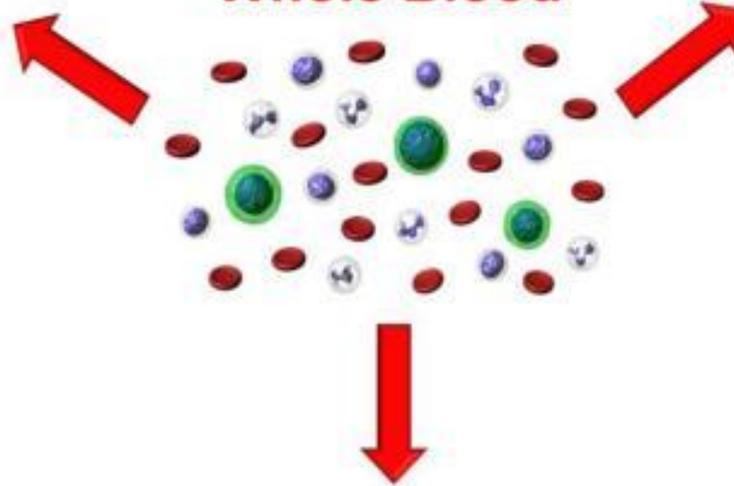
Surfaces



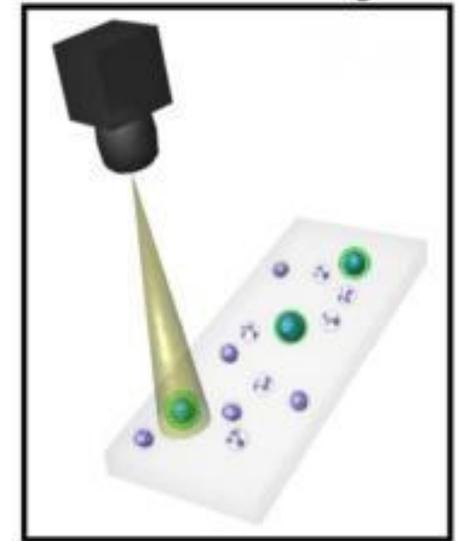
Leukocyte depletion



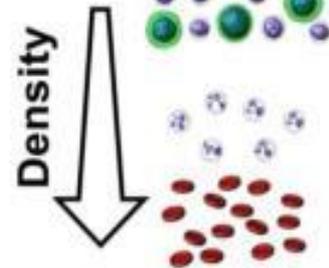
Whole Blood



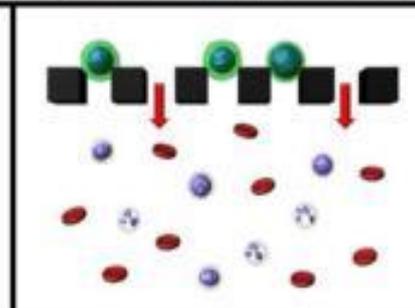
3. Direct Analysis



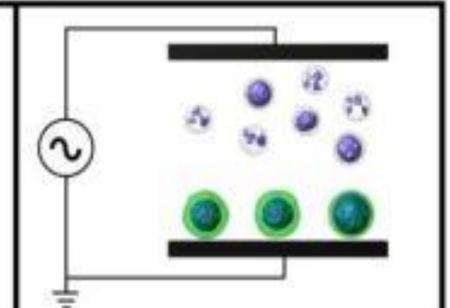
2. Physical Properties



Centrifugation



Size/Deformability



Dielectrophoresis



CTC



Leukocytes



Erythrocytes

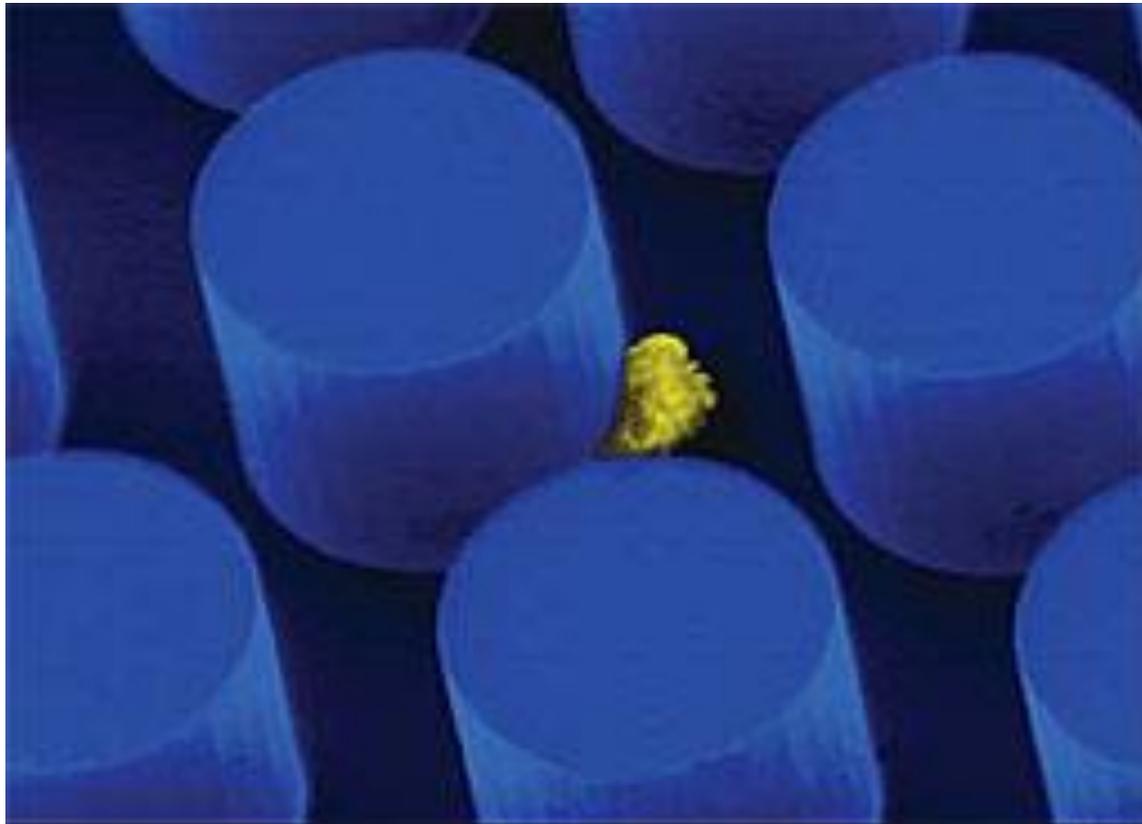
СТС - МИКРОБИОЧИП

состоит из кремниевого чипа с присоединенными к нему колонками, камеры, куда помещают чип и пневматического насоса. Колонки покрыты антителами к адгезивным молекулам эпителиальных клеток (EрСАМ, epithelial cell adhesion molecule) играют роль миниатюрных пробирок, в которых смешиваются клетки и химические вещества. СТС-чип содержит **78 тыс. микроколонок**, выхватывающих раковые клетки. В отличие от обычных клеток почти все клетки карцином несут на поверхности EрСАМ.

Обнаруживает одну ЦОК крови даже среди миллиарда нормальных, в 100 раз превосходя по чувствительности наиболее распространенные методы идентификации аномальных клеток, требующие инкубации больших объемов.

**Раковая клетка легких "прилипла" к микроколонке
СТС-чипа, которая покрыта антителами к одному из
поверхностных белков клетки.**

Размеры каждой колонки - 100 x 100 мкм



**ТЕХНОЛОГИИ АНАЛИЗА
СВОБОДНОЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ
ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК**

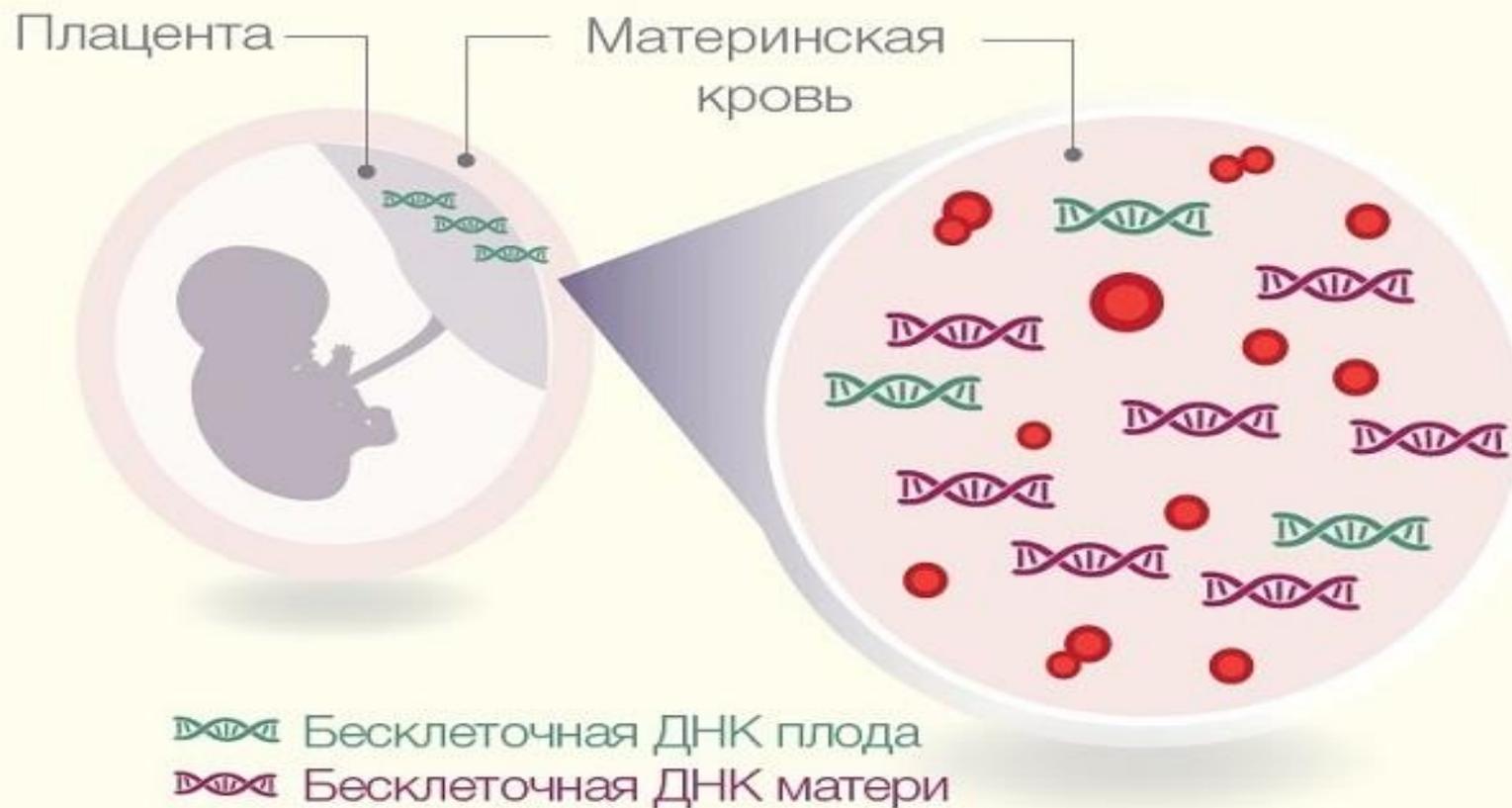
**ПРЕНАТАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ
АНАЛИЗ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК ПРИ
РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

Использование в ГТ циркулирующей в кровотоке матери внеклеточной ДНК плода (cell-free fetal DNA, cffDNA)

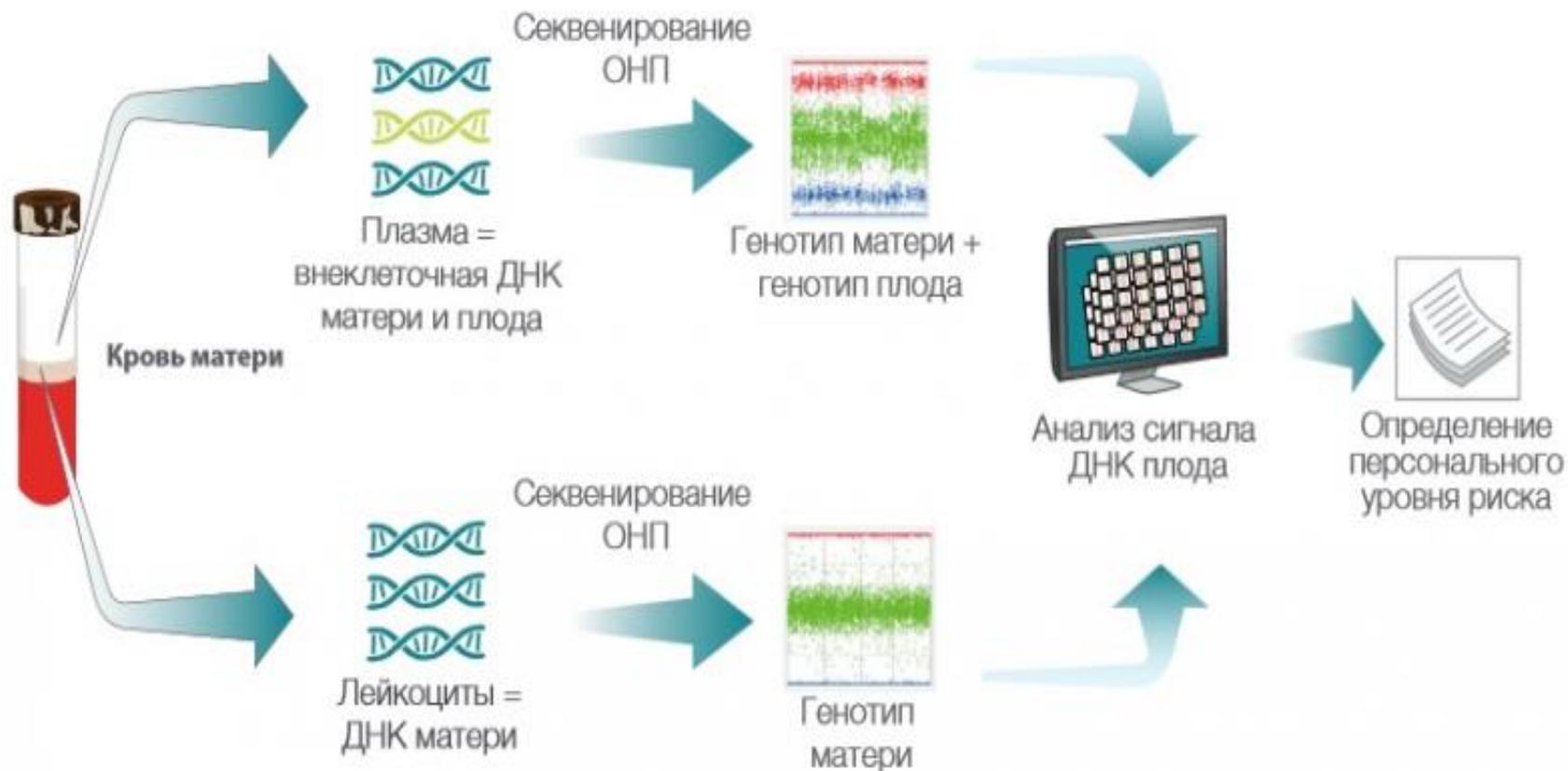
Весьма перспективной **технологией пренатального ГТ** является использование циркулирующей в кровотоке матери внеклеточной ДНК плода, начиная уже с пятой недели беременности. По числу прочтений, которые относятся к исследуемой хромосоме относительно референсной, можно определить случаи анеуплодии, выявить пол будущего ребенка, хромосомные перестройки. Указанный метод в 2012 г. одобрен как дополнение к существующим протоколам в США, но назначается либо при высоком риске наследственных заболеваний, или по желанию. Если проводится высокопроизводительное секвенирование всей внеклеточной ДНК и матери и плода, то это дает возможность диагностировать любое наследственное заболевание.

НАЧИНАЯ С 5 НЕДЕЛИ БЕРЕМЕННОСТИ ПРОВОДИТСЯ ЗАБОР 18 МЛ ВЕНОЗНОЙ КРОВИ

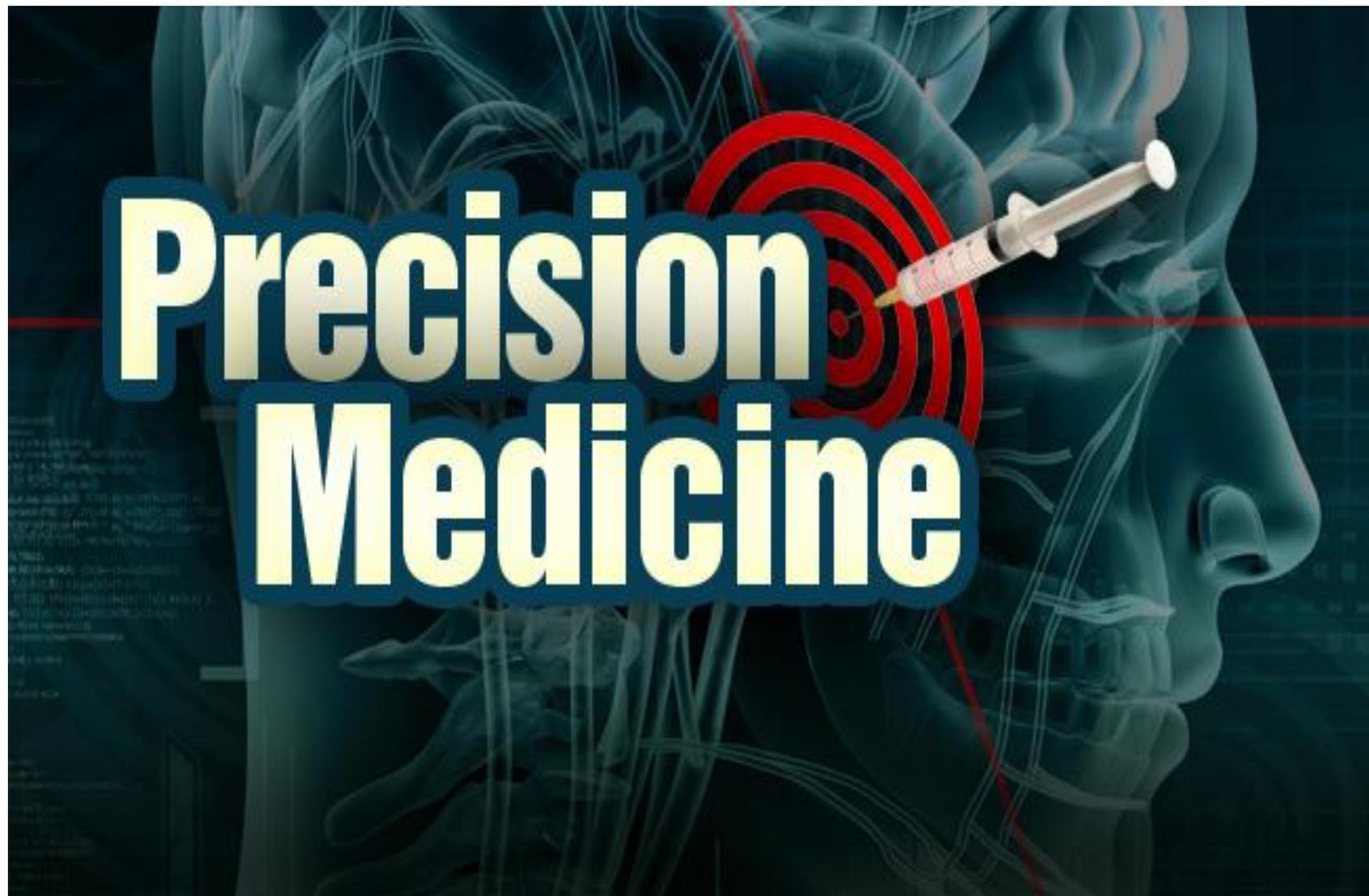
ДНК ребенка в крови матери



Количественный, когда просто сравнивают количество исследуемых хромосом (13, 18, 21 и половых) относительно шестой и определяют вероятность наличия синдромов Дауна, Эдвардса, Патау, Клайнфельтера и Тернера.

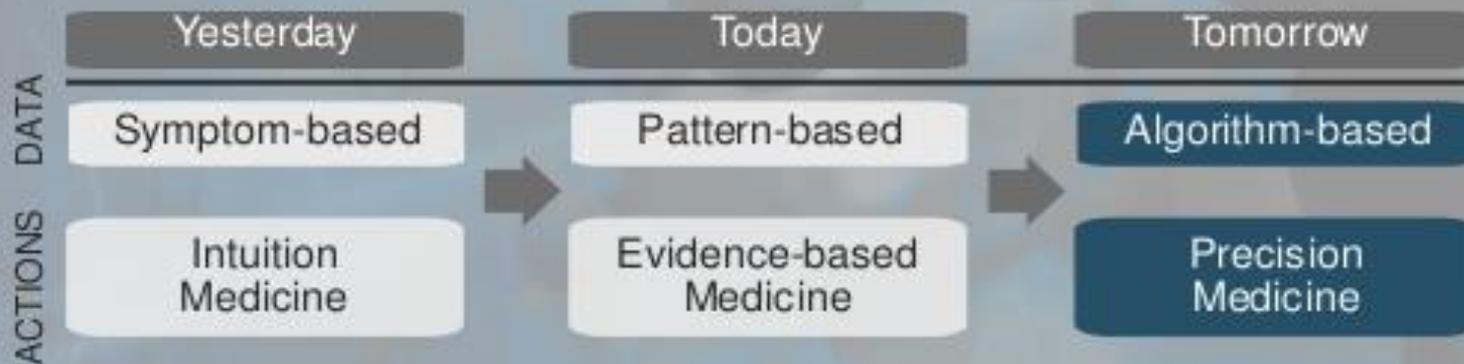


ПРЕЦИЗИОННАЯ МЕДИЦИНА

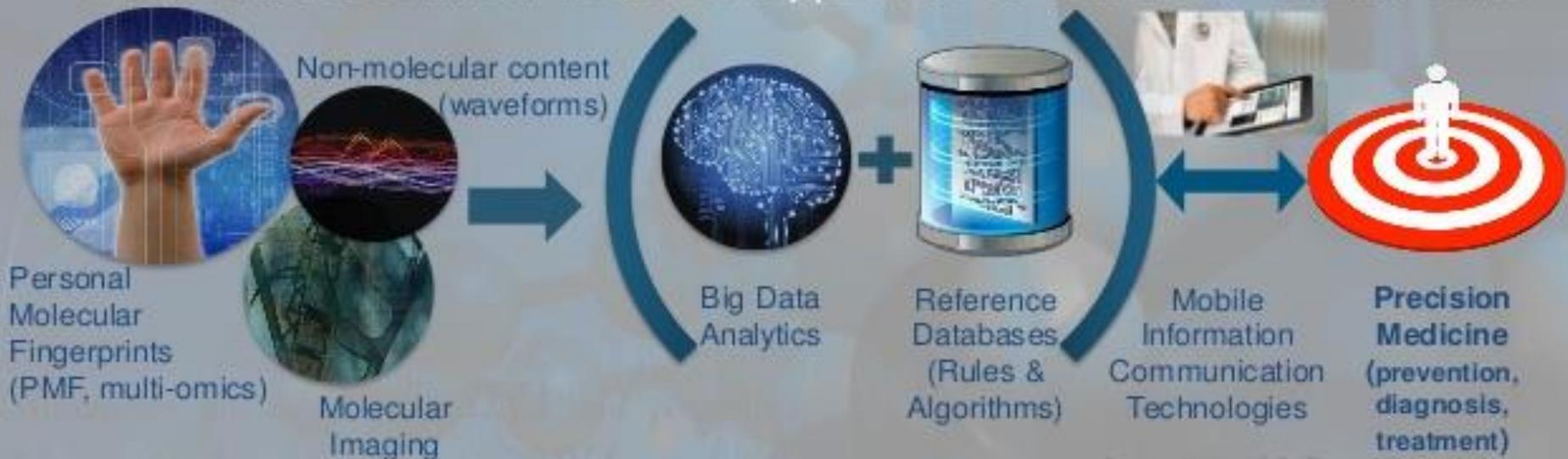




Precision Medicine - Paradigm Shift



Application of rules, algorithms and reference databases enables ACTIONABLE clinical decision support & PRECISE/EFFICIENT care



ИНТЕГРАТИВНОЕ ПЕРСОНАЛЬНОЕ ОМИКСНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ (иПОП)

ПМ выиграет от сочетания геномной информации с регулярным мониторингом физиологического состояния организма.

иПОП КОМБИНИРУЕТ ГЕНОМНЫЕ ЭКСПРЕССИОННЫЕ, ПРОТЕОМНЫЕ МЕТАБОЛОМНЫЕ И АУТОИММУННЫЕ ТЕСТЫ, ПРОВЕДЕННЫЕ НА ОДНОМ ЧЕЛОВЕКЕ В ТЕЧЕНИЕ 14 МЕСЯЦЕВ И ВЫЯВЛЯЕТ ИЗМЕНЯЮЩИЕСЯ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И МЕДИЦИНСКИ ЗНАЧИМЫЕ ФЕНОТИПЫ.

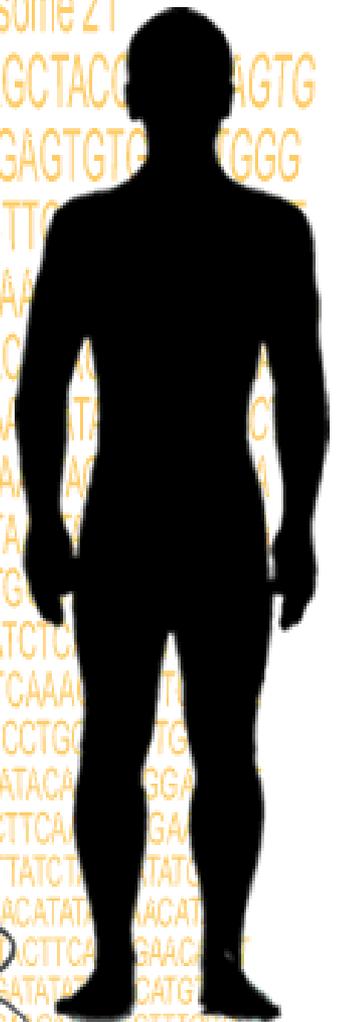
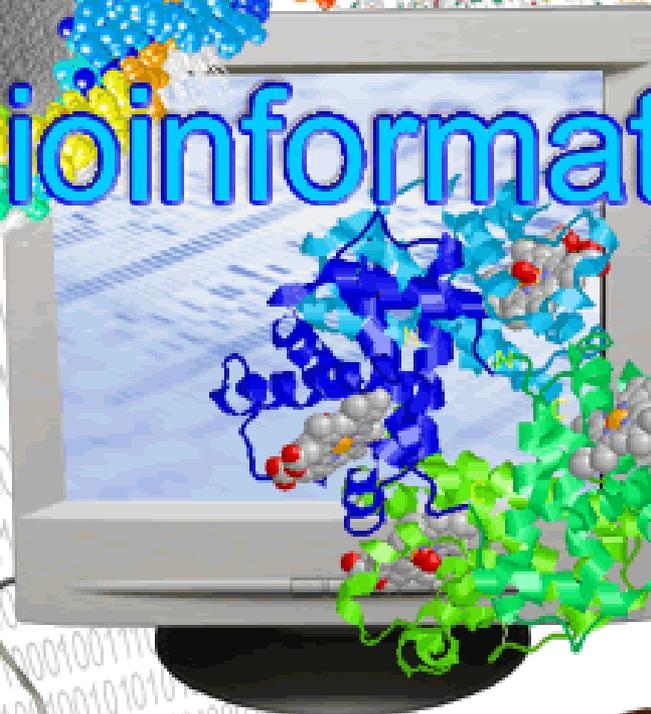
Геномные и экспрессионные данные самого высокого разрешения, лежащие в основе анализа показали значительные динамические изменения в различных молекулярных компонентах и биологических путях в условиях нормы и болезни.

**ИНТЕГРАЛЬНОЕ
ОМИКСНОЕ
ПРОФИЛИРОВАНИЕ НЕ
МЫСЛИМО БЕЗ**

биоинформатики!

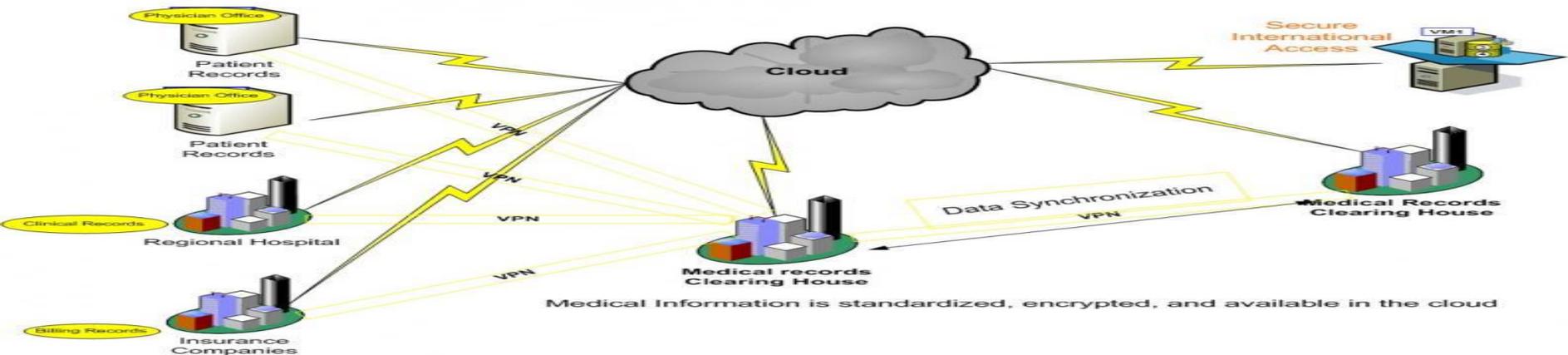
**Которая и предлагает
профессиональной
(в том числе – *медицинской*) аудитории**

Bioinformatics



>gi22067441|ref|NT_029490.3|Hs21_29649
Homo sapiens chromosome 21
AAGCTTGTCAAGTAAGCTACCAGTG
CTGGGAATGAAAGGGAGTGTGGGG
AGTTGGGGGACTGCTT
CTCTTCTGGATTTAA
TCTAATAAATCTGAA
CCAAAGCAGGGAATA
AATATGTAAGTAAGTG
CAATTTTGAATATCT
TGAAGTTCTATTTCAA
TGATGCCTGATGTTCTCG
CCAAATTTAGGTAATACA
GTGAGTATGTACCTTCA
AGCACTGACATTTTATCT
TAGATTTATGAACAATATA
TAAACATAAATAAATCTTCA
TGGATAGATTTACATATA
GGGTGGAAAGAGATATCTTCC
AAGGGGAATCTATACTTAATC
ATOCAGCACTGGAAGTCA
TCTCGC

Cloud Based Medical Big Data



При создании
единых информационных систем

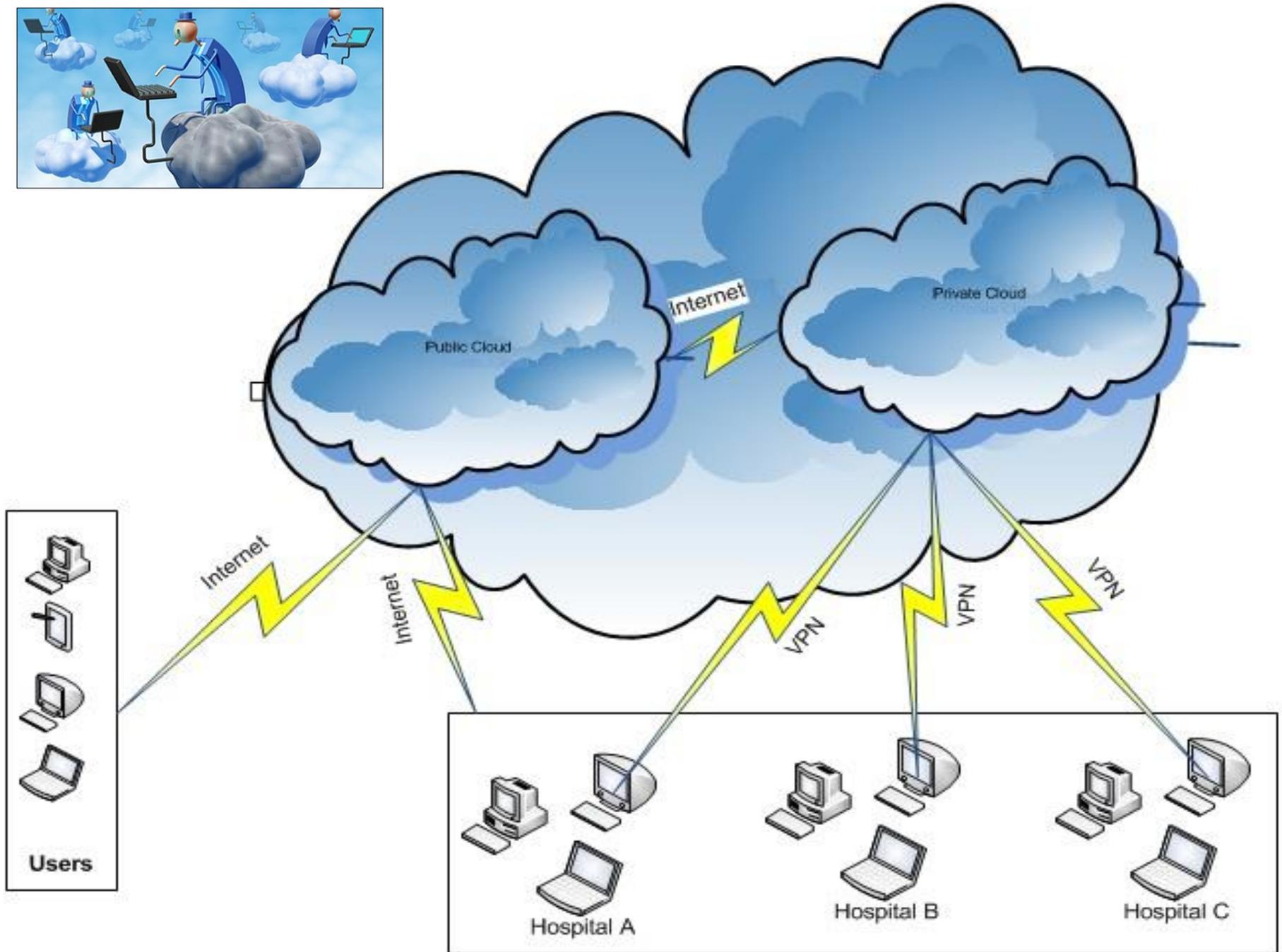
используются также и

сетевые облака
(network cloudy technologies)

как для целей

клинической практики,

так и в целях исследований для биофармацевтики



КРУПНЕЙШАЯ БАЗА ДАННЫХ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ (Великобритания, 2015 г.)



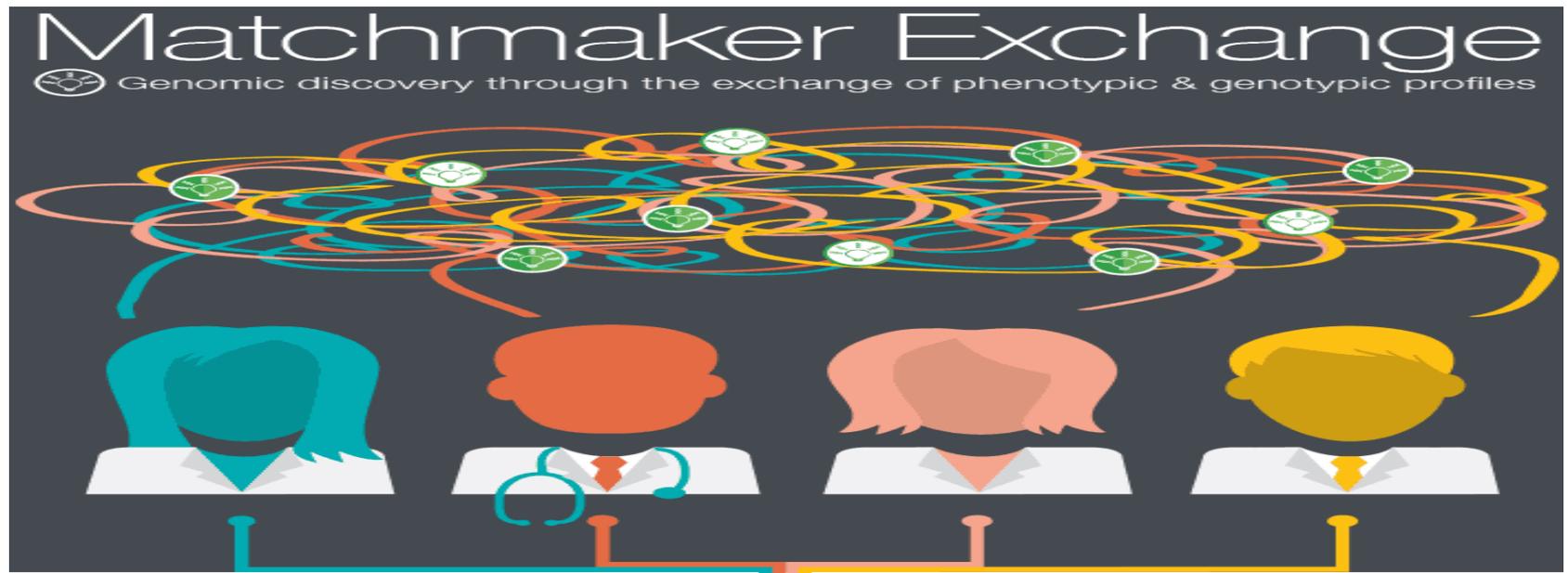
Десять крупнейших фармацевтических и биотехнологических компаний договорились о сотрудничестве с британской государственной организацией Genomics England с целью использования генетической информации пациентов Национальной службы здравоохранения Великобритании (NHS) в медицинских исследованиях, чтобы расшифровать геном 100 тысяч пациентов, страдающих от онкологических или редких заболеваний. Старт проекта «100 тысяч геномов» состоялся в 2012 г. (бюджет 100 млн евро) и к 2015 г. удалось расшифровать геном 3 тысяч пациентов. Если к 2017 г. компании смогут достигнуть своей цели и расшифровать 100 тысяч геномов, они соберут одну из крупнейших в мире базу данных генетической информации.

ОБЪЕМ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДАННЫХ ОТ ОДНОГО ЧЕЛОВЕКА СОСТАВЛЯЕТ ТЕТРАБАЙТ

Intel и центр исследования рака имени Найт при Орегонском медицинском университете начинают испытания сети для конфиденциального обмена геномными данными, необходимыми для подбора индивидуальных курсов лечения в области онкологии. Компьютерные системы медицинских учреждений не приспособлены для обмена такими данными, особенно, если учесть требования законов о соблюдении врачебной тайны.

Облачный сервис Collaborative Cancer Cloud, разработанный в Intel, использует технологию «доверенного выполнения» Trusted Execution Technology, что дает возможность сохранить контроль над данными, одновременно позволяя посылать запросы на поиск сходных геномов в архивах других учреждений. Перед анализом данные анонимизируются. В начале будущего года к сервису должны присоединиться еще два центра исследования рака.

Ной – 6-летний мальчик, который страдает заболеванием, названия для которого просто нет.. В январе 2015 г. программисты из Торонто начали тестировать систему по обмену генетической информацией между больницами и другими медицинскими организациями. Система уже получила название MatchMaker Exchange, и пока ее главная цель – налаживание взаимодействия между медиками различных стран, которые занимаются проблемой редких генетических мутаций в одном-единственном гене.



Разработчики считают, что наилучшим решением является созданием компьютерной сети, данные в которой будут децентрализованы. У каждой организации, имеющей доступ в такую сеть, будут различные архивы данных и уровни доступа, что решит проблему хранения частной информации.

А преимущества создания такой системы в значительной степени нивелируют возможные риски. Теперь любой человек с раковой опухолью или другим сложным заболеванием получит расшифровку ДНК, сравнение его ДНК с информацией других людей, что позволит определить лучший метод лечения, а лечение, в свою очередь, станет индивидуальным.

Ранее группа канадских генетиков с 2011 по 2013 г. при помощи метода генетического анализа смогла идентифицировать 55 заболеваний, которые канадские медики не могли распознать. После начала работы глобальной системы процент успешных случаев возрастет многократно, и случаи излечения сложных для идентификации заболеваний перестанут быть редкостью.

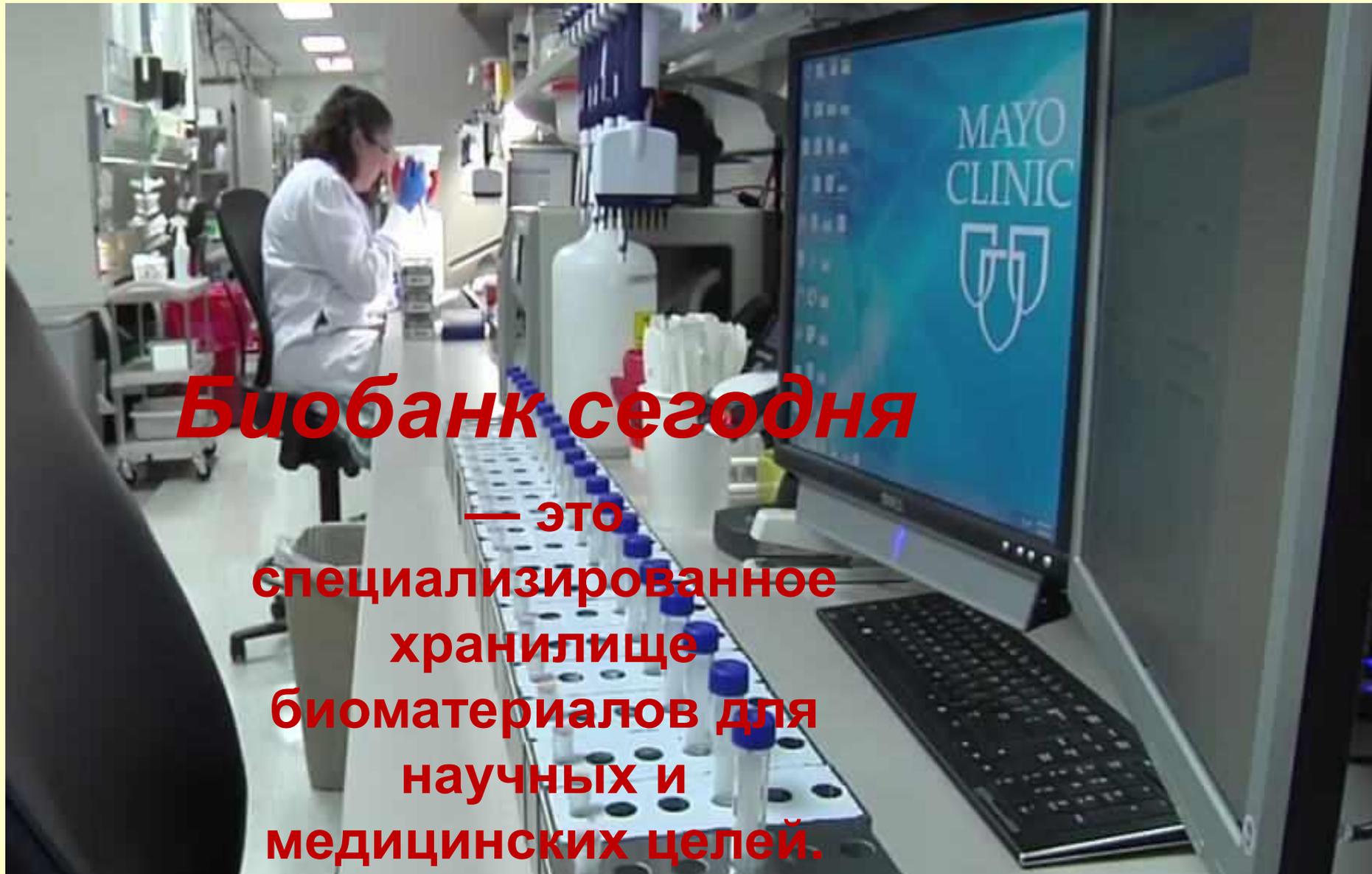
Результаты
гено- и фенотипирования,
подвергнутые математической обработке,
далее используются для создания
глобальных информационных банков, необходимых
для
биомониторинга
индивидуального здоровья.

А что же предпринимается в сфере, ориентированной
на манипуляции с огромными объемами
самих биологических образцов???

Mayo Clinic Biobank

Биобанк сегодня

**— это
специализированное
хранилище
биоматериалов для
научных и
медицинских целей.**



**Соответственно, итоги диагностического тестирования после
обработки используются в создании**

единых информационных баз

**(электронных историй болезни и медицинской документации,
а также биобанков), необходимых для**

мониторинга индивидуального здоровья

**(с использованием мобильных телесистем и облачных
технологий)**

Возможным стало и формирование

групп риска

с эффективным мониторингом не только заболевания,

НО И

состояния здоровья

Национальные институты здоровья США (NIH) создают группу из одного миллиона людей, которые будут участвовать с 2016 г. в масштабных медицинских исследованиях, в задачу которых входит:

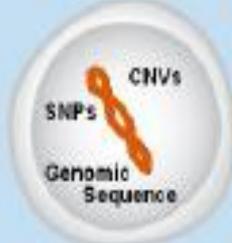
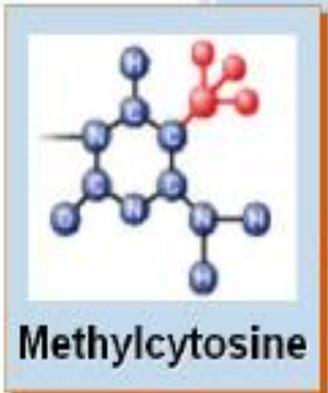
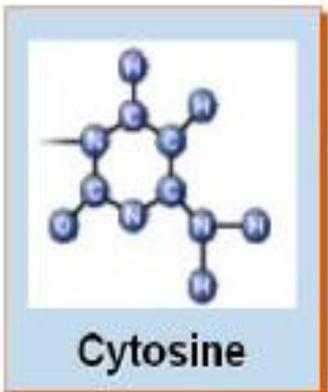
- Количественно оценить риски для ряда заболеваний, включая факторы окружающей среды, генетические факторы и сочетания этих факторов**
- Понять причины индивидуальных отличий реакций людей на общепринятую терапию (фармакогеномика)**
- Найти биологические маркеры, которые указывают или уменьшают риск развития обычных болезней**
- Внедрить технологии мобильного здоровья (mHealth), чтобы следить за действиями участников, физиологическими параметрами и состоянием окружающей среды**
- Развить новые классификацию болезней и их взаимосвязей**
- Предоставить участникам исследования данные и информацию, которые улучшат их здоровье и создадут базу для испытаний направленной терапии.**

ЭПИГЕНЕТИКА

Изменения экспрессии генов или фенотипа клетки, вызванные механизмами, не затрагивающими изменение нуклеотидной последовательности ДНК изучает эпигенетика. Эпигенетические изменения представляют собой химические модификации последовательности ДНК или гистонов – белков, необходимых для упаковки нитей ДНК в хромосомы.

К эпигенетическим, то есть к внешним по отношению к ДНК механизмам регуляции экспрессии генома относят метилирование, ацетилирование, убиквитинилирование (ковалентное присоединение к белку мишени множество молекул убиквитина) и фосфорилирование.

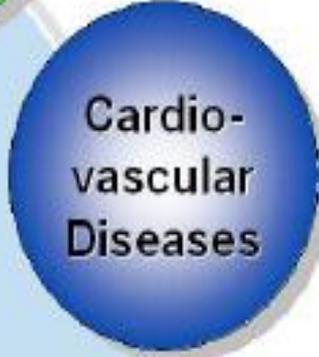
Methylation



RNA

Expression

Regulation



Cancer

ГАПЛОГРУППЫ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

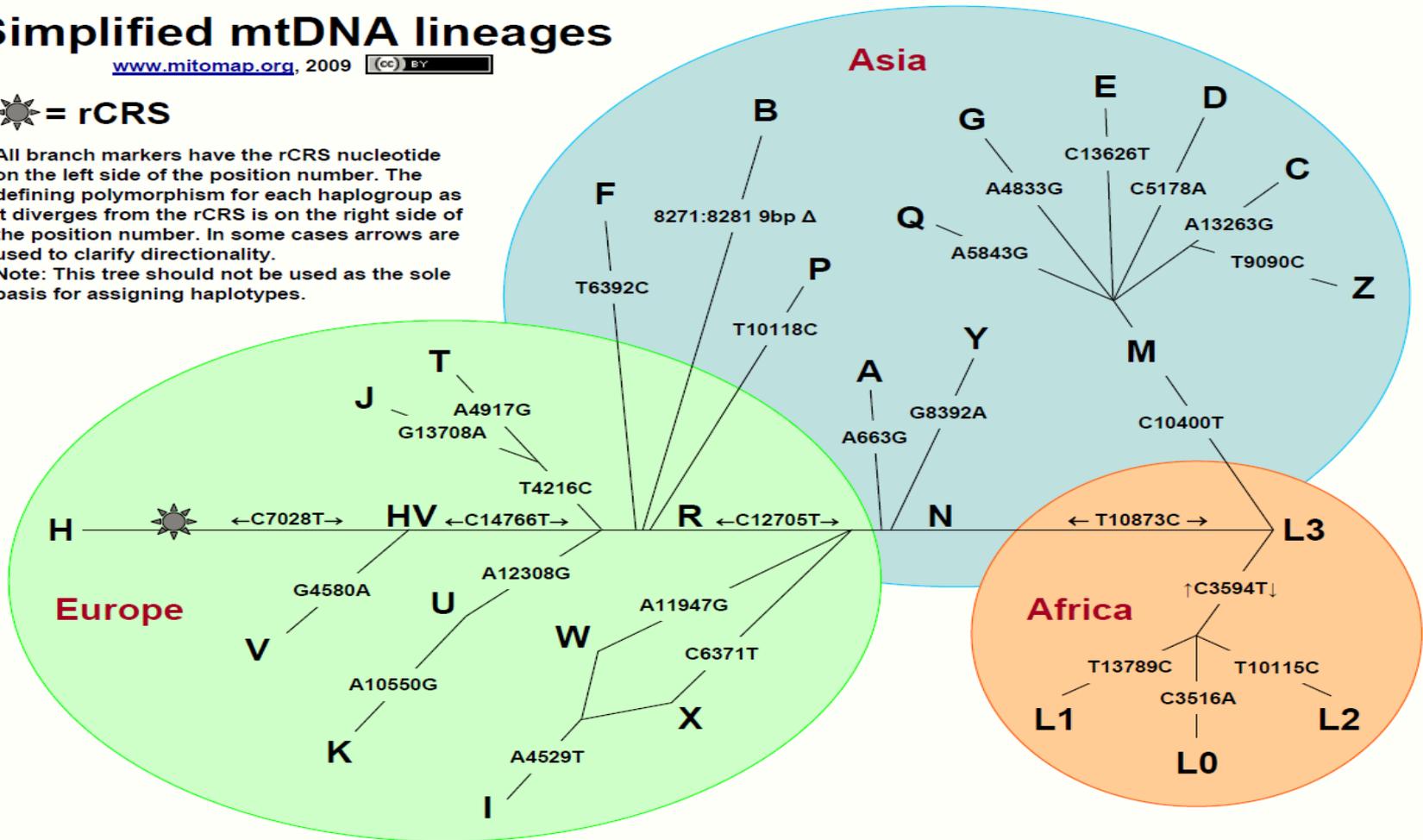
Simplified mtDNA lineages

www.mitomap.org, 2009 

 = rCRS

All branch markers have the rCRS nucleotide on the left side of the position number. The defining polymorphism for each haplogroup as it diverges from the rCRS is on the right side of the position number. In some cases arrows are used to clarify directionality.

Note: This tree should not be used as the sole basis for assigning haplotypes.

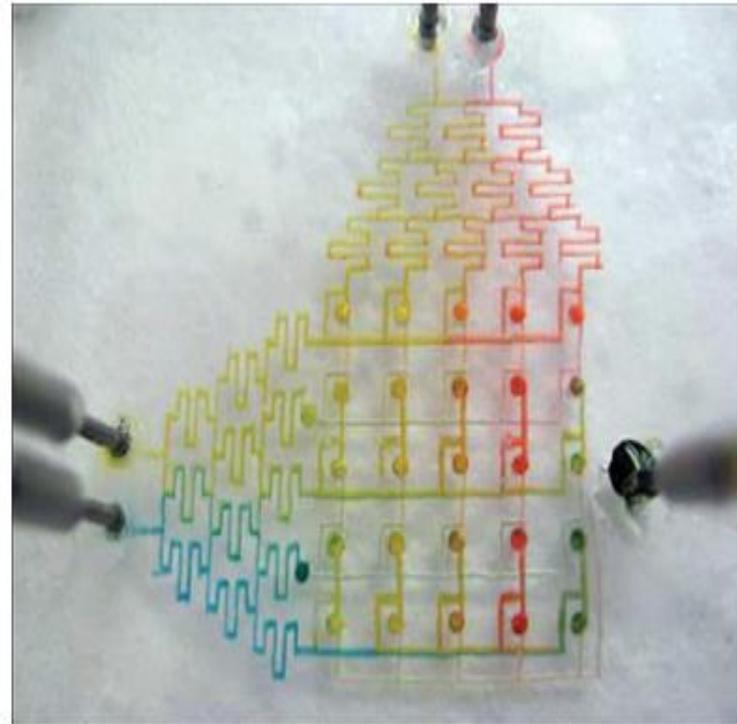
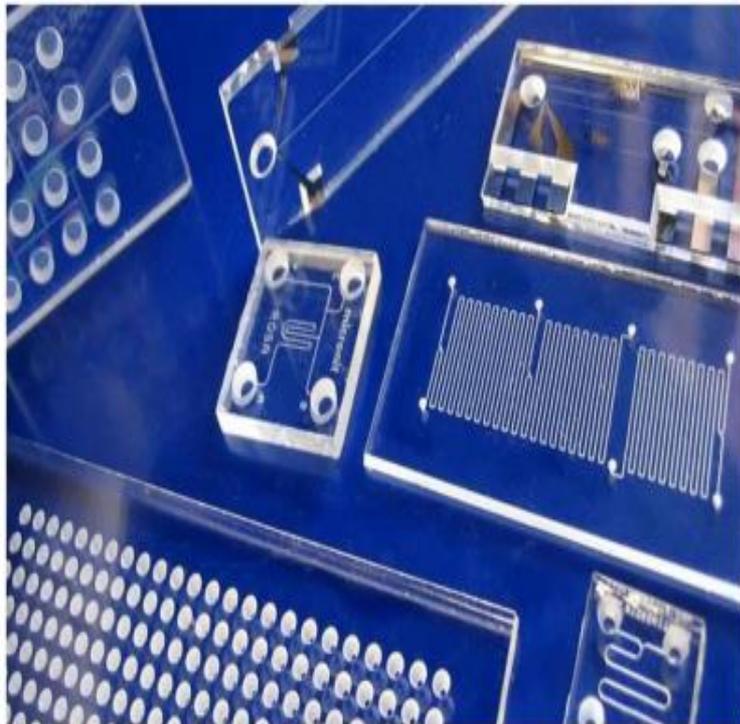


ВЛИЯНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ГАПЛОТИПОВ НА ОРГАНИЗМ

Гаплогруппа	Пониженная вероятность
J, Uk	болезни Паркинсона
U, T	болезни Альцгеймера
T	рака молочной железы
H	возрастной дегенерации сетчатки
H	сепсиса
N9a	диабета, метаболического синдрома и инфаркта миокарда у азиатов

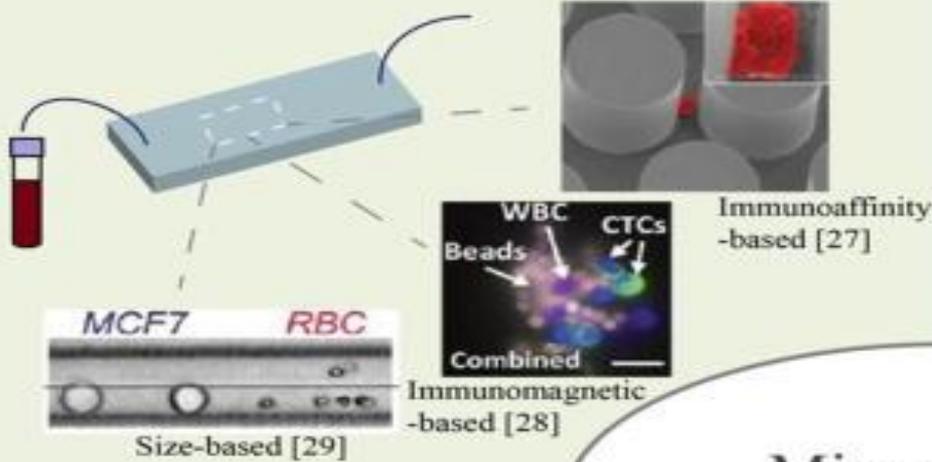
Микрофлюидные системы для проведения мультиплексного анализа

Системы микроканалов и резервуаров с управляемым движением потоков для проведения многостадийного анализа

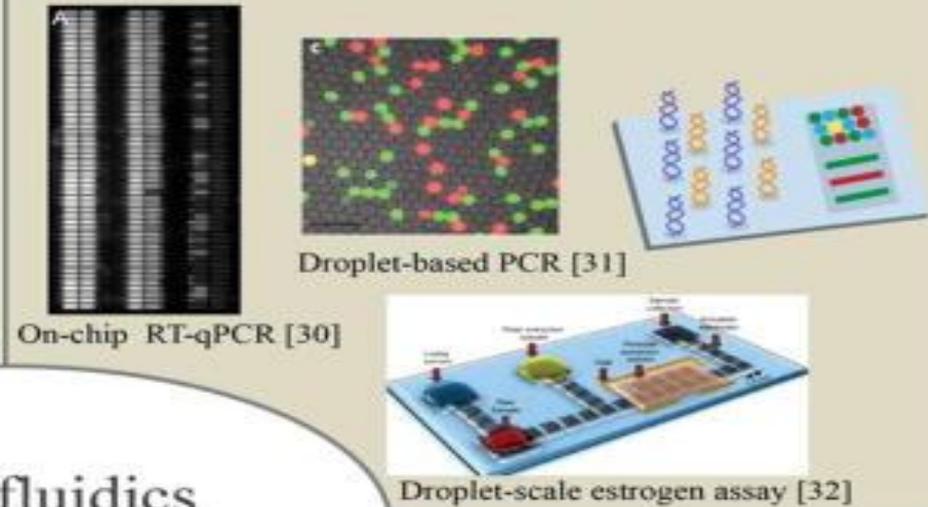


Миниатюризация позволяет локализовать на малой площади большое число участков с реагентами разной специфичности для проведения мультиплексного анализа

Isolation of CTCs

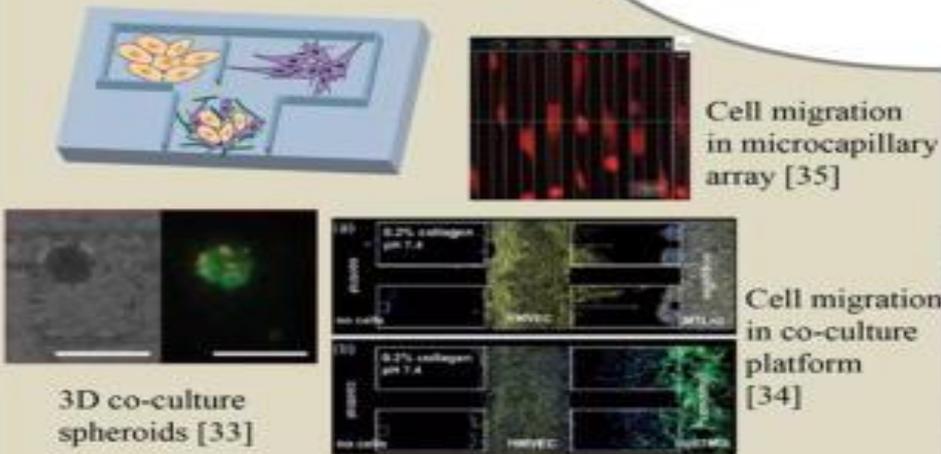


Molecular Diagnosis

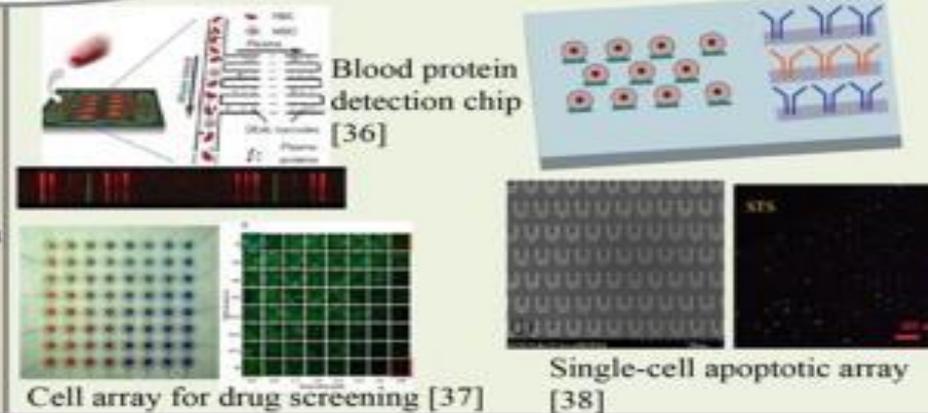


Microfluidics for Cancer

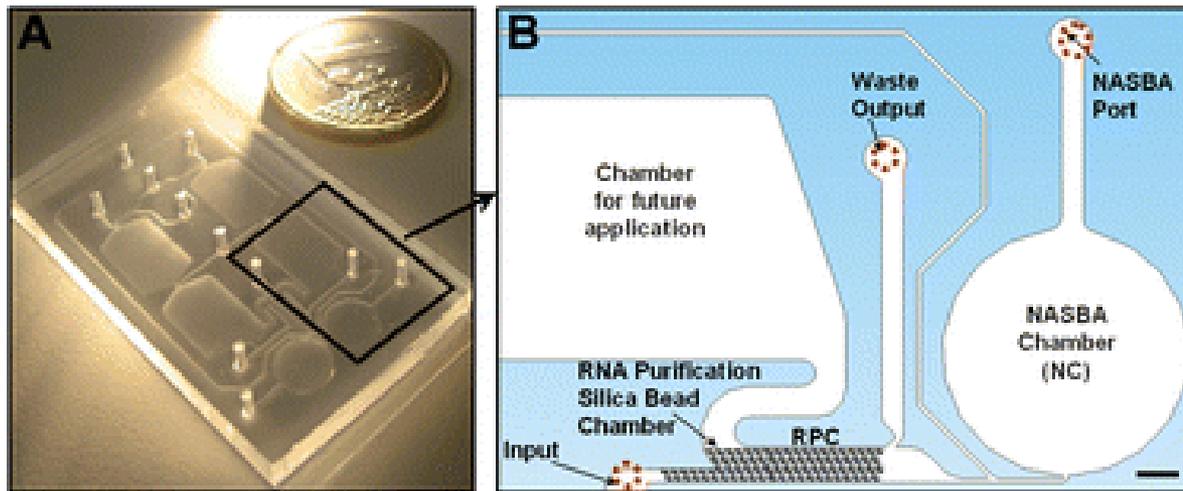
Tumor Biology



High-throughput Screening



Биочипы на основе микрофлюидомных технологий



ВОЗМОЖНЫЕ ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ BioMark

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ

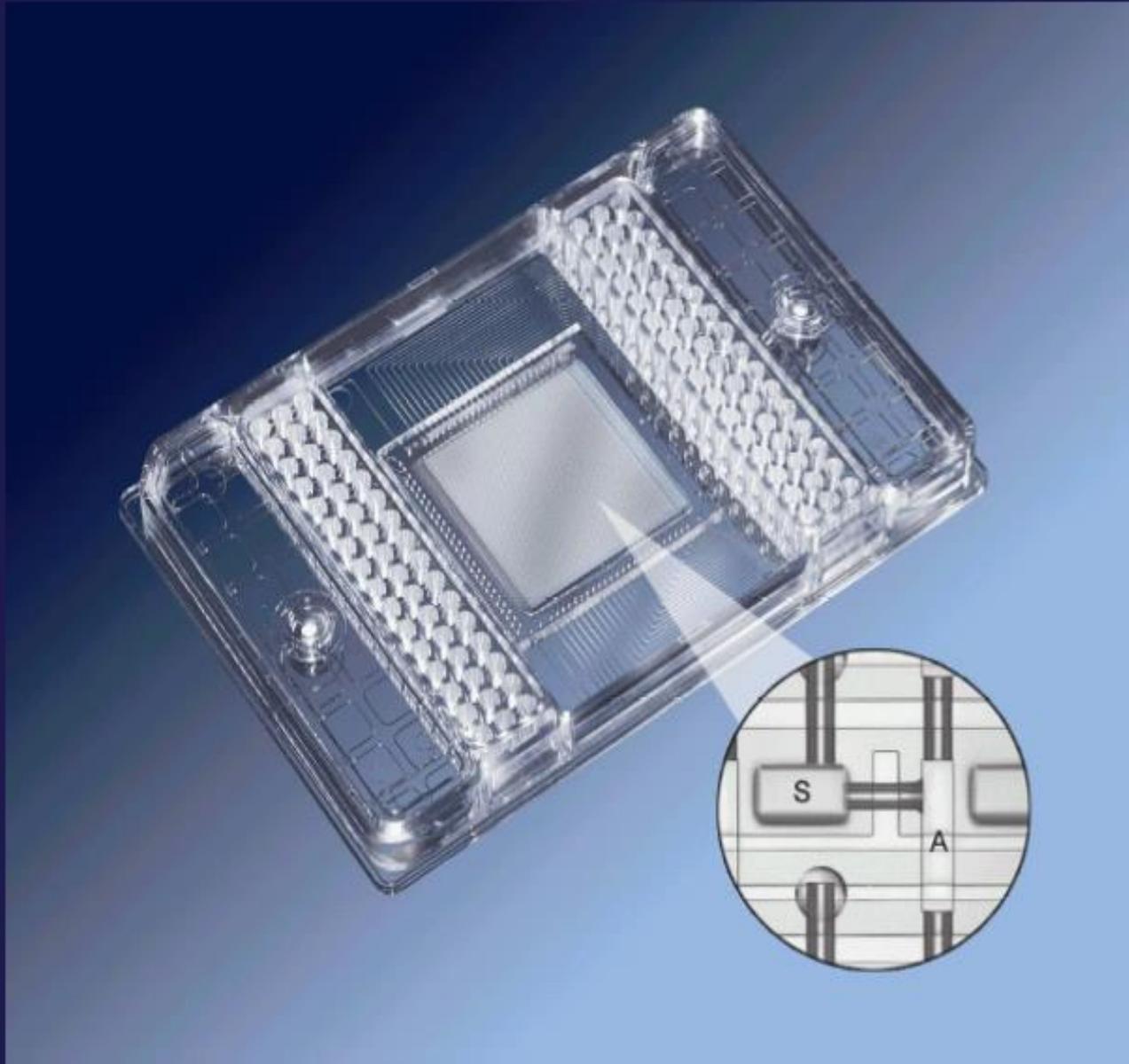
ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ОТДЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

ОМП АНАЛИЗ

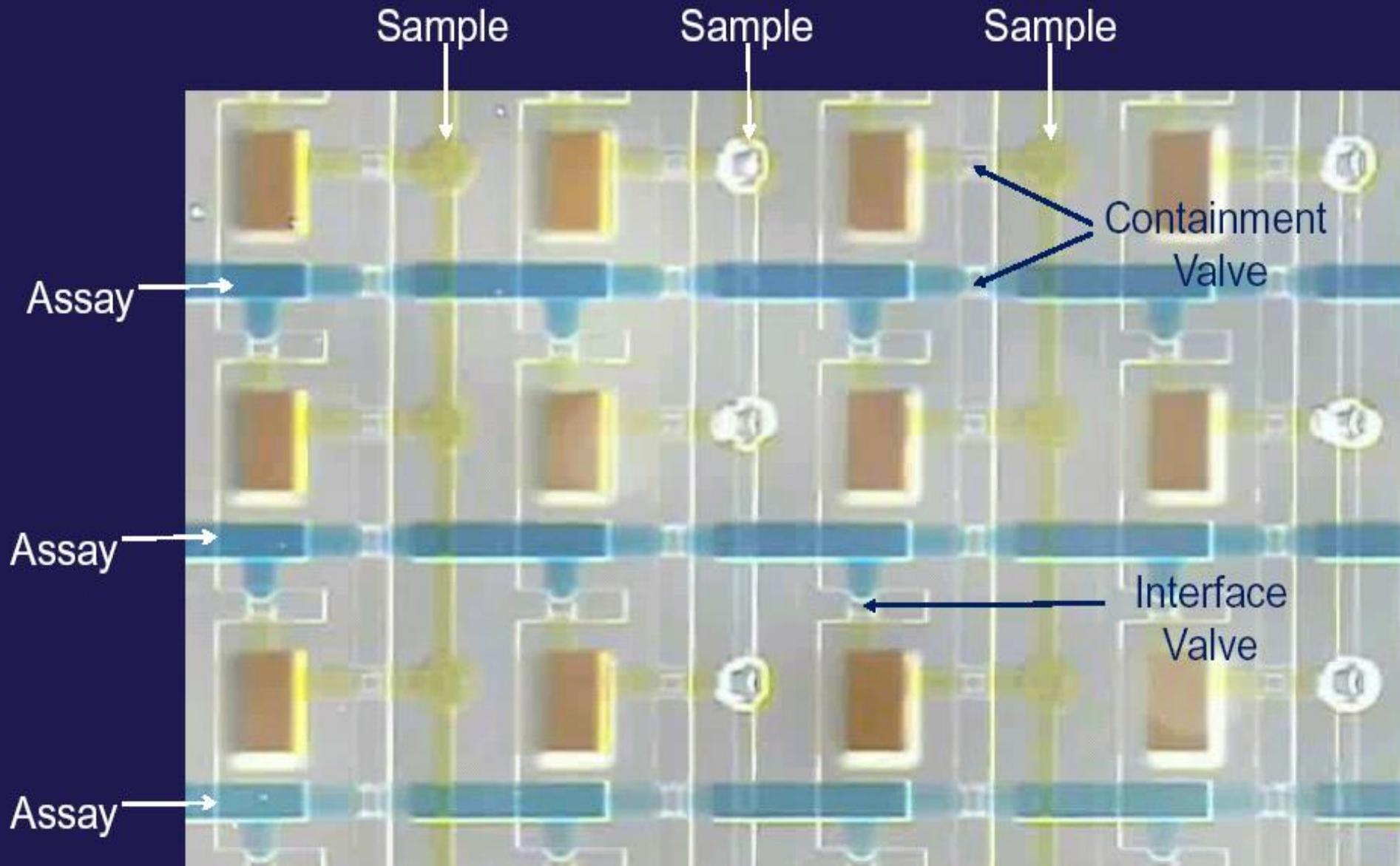
CNV АНАЛИЗ

ДНК СИКВЕНС

The Dynamic Array™ Architecture



Dynamic Array



Fast & Easy Workflow

Pipette



10 min

Load



45/90 min

PCR



90 min

Digital Array Image



Sample

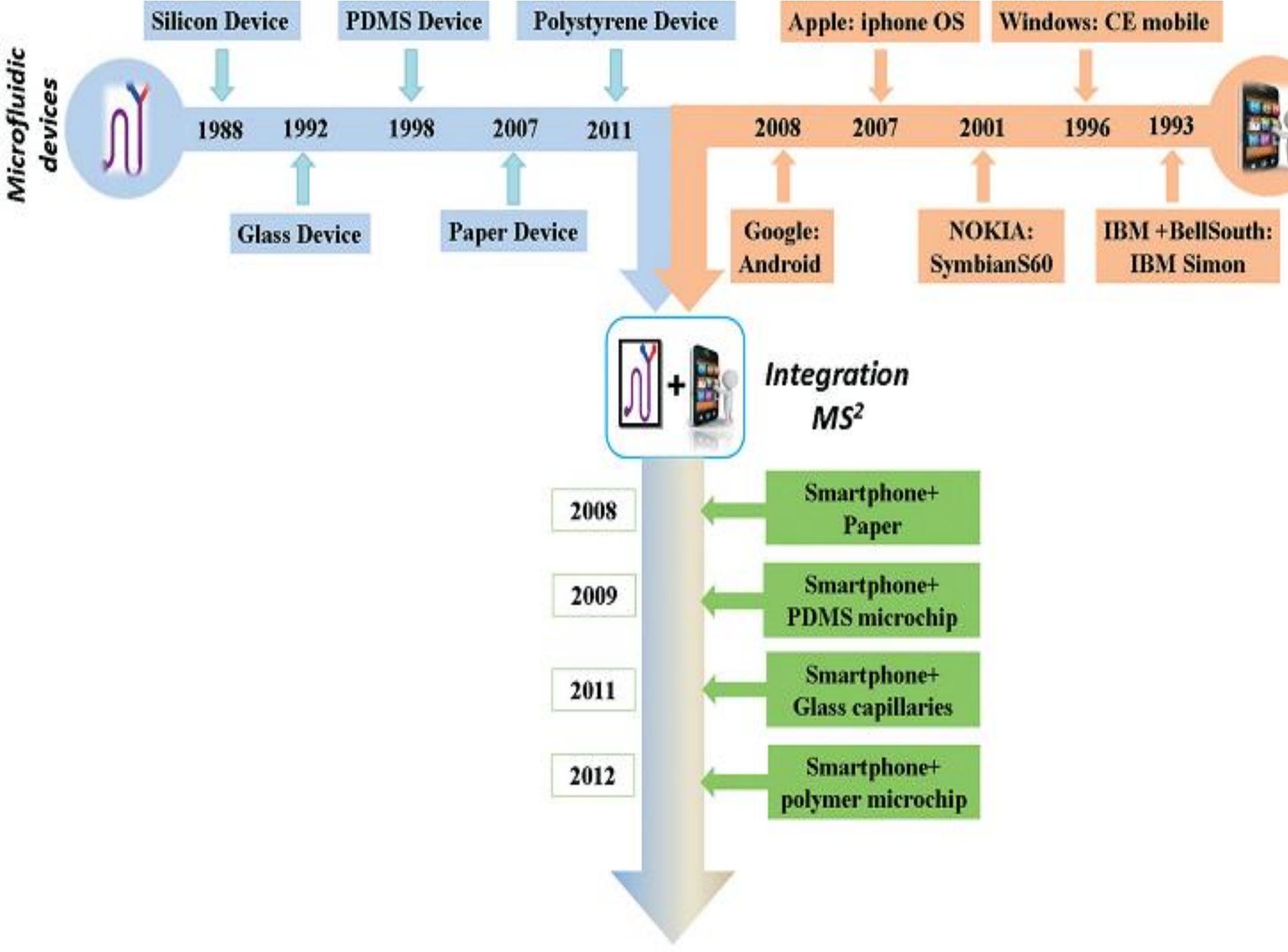
Negative control

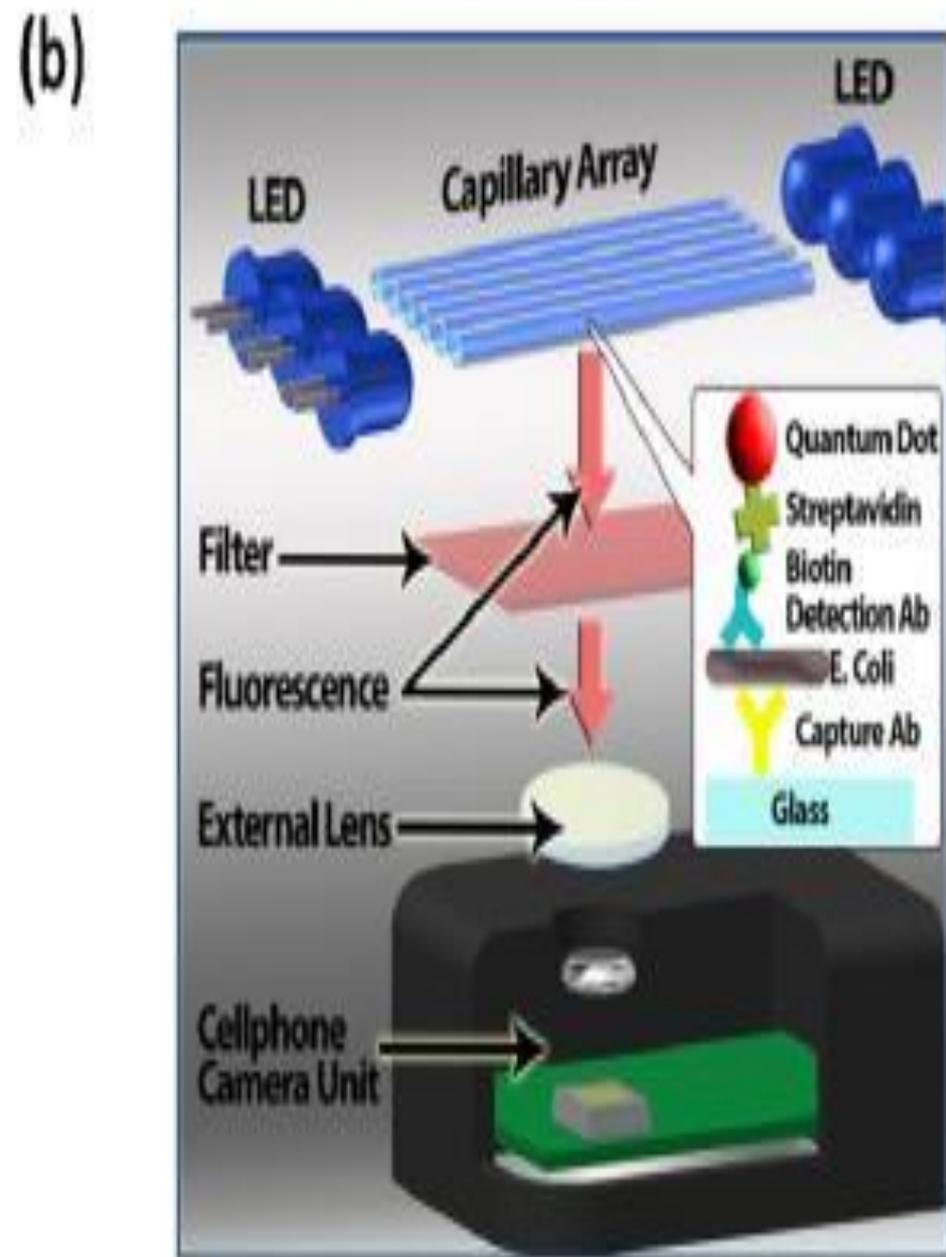
Positive control

МОБИЛЬНАЯ МЕДИЦИНА mHealth

НОСИМЫЕ УСТРОЙСТВА, ПОДКЛЮЧЕННЫЕ К ПЛАТФОРМАМ ПОЗВОЛЯТ ОБЕСПЕЧИТЬ ФАКТИЧЕСКИ НЕПРЕРЫВНОЕ МЕДИЦИНСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ (7/24), В ЧАСТНОСТИ ОБНАРУЖИВАТЬ РАННИЕ ПРИЗНАКИ ПРОБЛЕМ СО ЗДОРОВЬЕМ.

РОСТ ИНВЕСТИЦИЙ В ЦИФРОВОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ УВЕЛИЧИЛСЯ С 1,5 млрд. долларов США в 2011 г. ДО 5,8 млрд. долларов в 2015 г.





ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ

В настоящее время в ПМ можно выделить несколько направлений ГТ: преимплантационное, пренатальное, неонатальное, педиатрическое и терапевтическое для взрослого населения. Обычно ГТ применяют в случаях наличия клинических симптомов или родственников, страдающих генетическим заболеванием.

Технологически ГТ осуществляется двумя методами, во-первых, таргетным секвенированием при наличии конкретных генетических полиморфизмов, и, во-вторых, полногеномного секвенирования. В первом случае исследуют конкретные генетические полиморфизмы: ОНП, CNV, вставки, делеции, дупликации и т.д. целевых генов или хромосомного региона. Полногеномные исследования применяют при заболеваниях с не совсем четкой клинической картиной, МФЗ, а также при проведении скрининговых исследований для выявления редких и не очевидных фенотипов

Для отдельных лиц (пациентов или лиц из групп риска) предложен принципиально новый (в бытовом смысле – “кухонный”, но в реальной практике - феноменальный) подход, а именно:

*Direct-to-Consumer (DTC)
genetic testing*

позволяющий проводить

*скрининг
индивидуальных геномных ландшафтов*

по личной инициативе
(без консультаций с лечащим врачом)

DTC-тестирование

кардинально меняет ситуацию на рынке, существенно приближая медицину 5П к регулярному потребителю и обеспечивая его реальным набором услуг новой генерации, а именно:

- доступностью для населения;**
- защищенностью информ-потоков;**
- вхождением в практику *превентивно-профилактических* платформ из категории **реального сервиса.****



**Набор для индивидуального
ДТС-геномного тестирования**

ГЕНОМ В ИНТЕРНЕТ

Директор аналитического агентства Digital Bazaar Ману Спорны (Manu Sporny) воспользовался в феврале 2011 г. сервисом GitHub для того, чтобы выложить в открытом доступе для всех пользователей интернет расшифровку своего генома. Для получения этой информации он воспользовался услугами компании, которая за сравнительно небольшую плату анализирует образец слюны, высылаемый на ее адрес в специальном пластиковом контейнере. В результате человек получает информацию примерно о 1 000 000 ОНП.

Генетическое тестирование по заказу по заказу (Direct to consumer testing) проводится для частных МФЗ

основными фирмами :

23andme, deCODEme, Navigenetics, Pathway Genomics, Gene Essence

Стоимость личного генетического тестирования непосредственно для потребителя отличается в различных компаниях:

23andMe's выполняет анализ за 399\$ и является наиболее дешевой. У Navigenics, которая использует микробиочипы Affymetrix, стоимость анализа 2 500\$, в то время как программа Decode Genetics, которая использует Illumina's Human 1M BeadChips стоит 985\$.



ЛИНДА АВЕЙ Linda Avey основатель 23andMe частной медицинской компании.



Сиквенс одной клетки

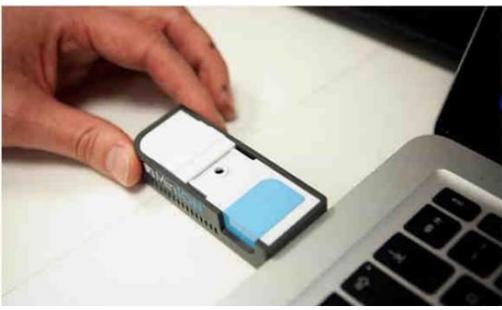
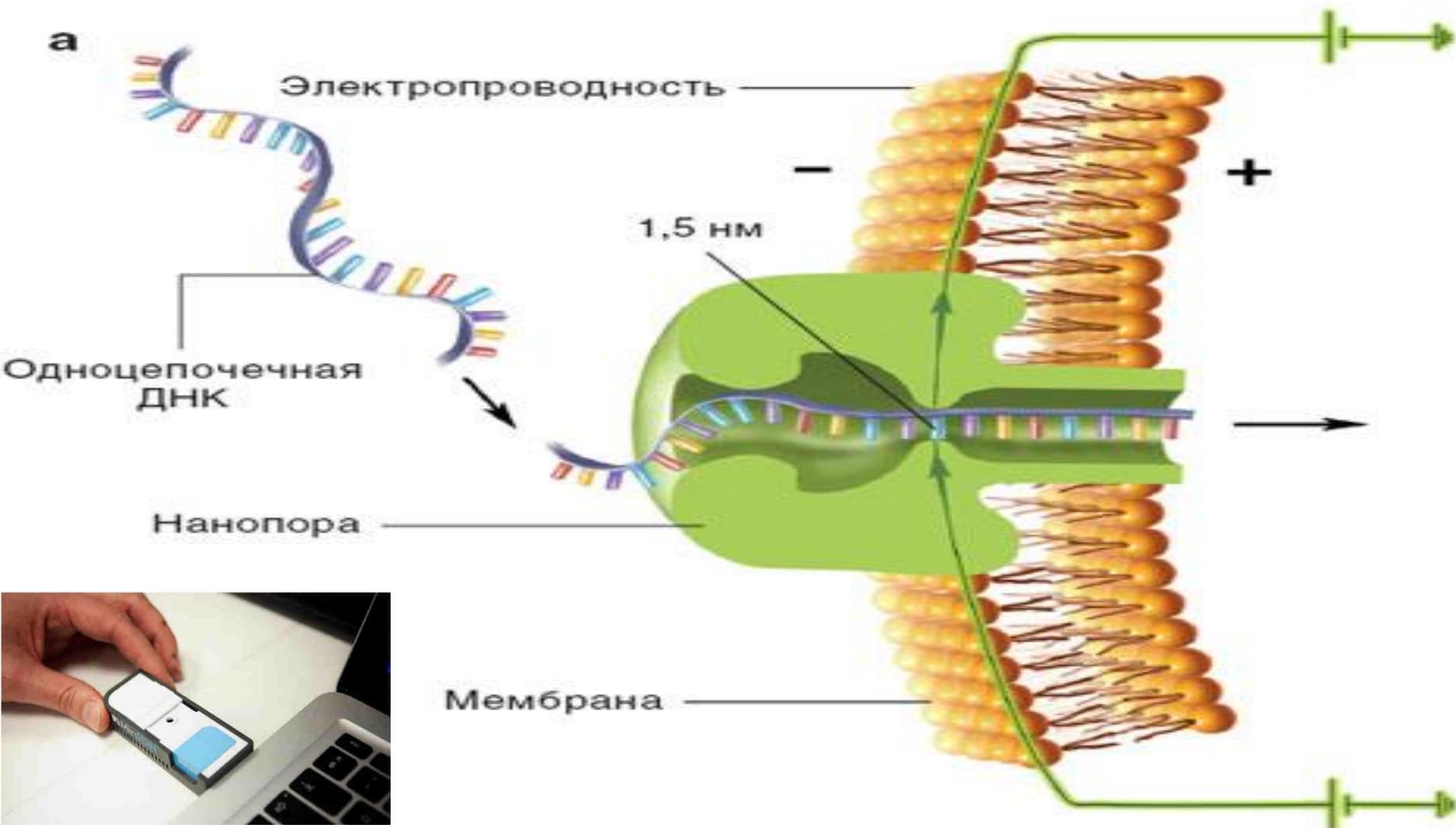
ВОЗМОЖНОСТЬ СИКВЕНСА ИНДИВИДУАЛЬНЫХ КЛЕТОК ОТКРЫВАЕТ НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДЛЯ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ.

(Battlich N. et al. Image-based transcriptomics in thousands of single human cells at single-molecule resolution.// Nat. Methods. – 2013. – 10. – P. 1127-1133.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕТЕРОГЕННОСТИ ДНК В ОПУХОЛЕВЫХ ТКАНЯХ ПО СРАВНЕНИЮ С НОРМАЛЬНОЙ, ОТ ПАЦИЕНТА К ПАЦИЕНТУ.

(Boycott K.M. et al Rare-disease genetics in he era of next-generation sequencing: discovery to translation.// Nat. Rev. Genet. – 2013. – 14. – P. 681-691.)

СИКВЕНС С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОПОР





MinION sequencer from Oxford

Nanopore Technologies

БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ!

